

السموم الفطرية

وصحة الإنسان والبيئة

Mycotoxins

Human Health and Environment



الأستاذ الدكتور

محمد عبد الفتاح طه ديش

قسم كيمياء وسمية المبيدات

كلية الزراعة - جامعة الإسكندرية







السموم الفطرية

وصحة الإنسان والبيئة

السموم الفطرية وصحة الإنسان والبيئة

Mycotoxins
Human Health and Environment

الأستاذ الدكتور
محمد عبد الفتاح طه ديش
قسم كيمياء وسمية المبيدات
كلية الزراعة – جامعة الإسكندرية





اسم الكتاب: السموم الفطرية وصحة الإنسان والبيئة

المؤلف: الاستاذ الدكتور/ محمد عبد الفتاح طه ديش

2015

رقم الايداع : ٧٣٤٤ / ٢٠١٤

الترقيم الدولي : 7- 168- 393- 977- 978 I.S.B.N.

الفهرسة: السموم الفطرية وصحة الإنسان والبيئة،

دشيش ، محمد عبد الفتاح طه

بستان المعرفة ٢٠١٥

٢٩٦ ص ١٧ * ٢٤.٥

تدمك : ٧-١٦٨- ٣٩٣- ٩٧٧- ٩٧٨

العنوان- كفر الدوار - الحدائق - ٨٦ ش الحدائق امام أبراج
الخلوانى

الناشر

مكتبة بستان المعرفة

ج. م. ع. - كفر الدوار - الحدائق - امام أبراج الخلوانى

☎ : ٠٤٥/٢٢٠٢٦٢٩ & الإسكندرية ٠١٢١١٥١٢٢٧

E-mail: bostan_elma3rafa@yahoo.com

الطباعة و التجهيزات الفنية:

دار الجامعيين لطباعة والتجليد الإسكندرية

جميع حقوق النشر محفوظة

ولا يجوز طبع أو نشر أو تصوير أو إنتاج هذا المصنف أو
أى جزء منه بأية صورة من الصور

بدون تصريح كتابى مسبق ومن يخالف ذلك يتعرض
للمساءلة القانونية المنصوص عليها فى القانون المصرى



الإهداء

أهدى هذا المؤلف إلى:

- روح والدتي ووالدي يرحمهما الله سبحانه العلى
القدير.
- زوجتي وأولادي نهى ، أحمد ، منه الله ، مي.

المحتويات

9	المقدمة
13	تمهيد
21	الباب الأول
23	محاولات مبكرة لإثبات وجود السموم الفطرية
33	الباب الثاني
35	تعريف السموم الفطرية
41	الباب الثالث
43	السموم الفطرية الرئيسية
65	الباب الرابع
67	السموم الفطرية وصحة الإنسان
91	الباب الخامس
93	ميكانيكية التأثير البيوكيميائي للسموم الفطرية وعلاقتها بالإنسان
107	الباب السادس
109	مسببات السموم الفطرية
125	الباب السابع
127	نظرة عن الطرق التحليلية للتلوث بالسموم الفطرية في الذرة وفول السودانى
157	الباب الثامن
159	علاقة الإصابة الحشرية بالتلوث الفطري
169	الباب التاسع
171	السموم الفطرية في اللحوم ومنتجات اللحوم
183	الباب العاشر
185	منع وخفض السموم الفطرية
205	الباب الحادي عشر
207	كيمياء ومكافحة السموم الفطرية
245	الباب الثاني عشر
247	التشريعات الخاصة بالسموم الفطرية على مستوى العالم
267	الباب الثالث عشر
286	أمثله لتصور المرض الفطري
289	الباب الرابع عشر
291	المراجع

المقدمة

أصبحت السموم الفطرية Mycotoxins من الموضوعات الهامة التي يتناولها الجميع ولقد تم إعداد هذا الكتاب لمن يرغب في المعرفة والبحث في مجال السموم الفطرية وعلاقتها بصحة الإنسان والبيئة والنظم البيولوجية.

ويعتبر هذا الكتاب من القلائد باللغة العربية في هذا المجال. وتم الاستعانة بالمصطلحات الكيميائية والبيولوجية باللغة العربية والانجليزية في نفس الوقت مع الاهتمام بالتركيب الكيميائي وميكانيكية التأثير.

أهم السموم الفطرية في هذا الكتاب:

Aflatoxins, Patulin, Ochratoxins, Zearlenones, Trichothecenes, Fumonisin

وجميع المشتقات والنواتج الحيوية الخاصة بتلك المركبات. يبدأ هذا الكتاب بتمهيد عن الفرق بين الفطريات المنتجة وغير المنتجة للسموم الفطرية، ثم المحاولات المبكرة لإثبات وجود السموم الفطرية ومدى استعمال السموم الفطرية كسلاح بيولوجي. التعرف على السموم الفطرية وتصنيفها. مع الاهتمام بالسموم الفطرية الرئيسية وعلاقة السموم الفطرية بصحة الإنسان وأنواع الأمراض وأعراضها التي تصيب الإنسان بسبب السموم الفطرية والنواتج الحيوية للأفلاتوكسين وعلاقتها بسرطان الكبد وأعراض السرطان الأخرى والعلاقة مع الفيروسات والمتطفلات ومتبقياتهما في أنسجة الحيوانات وتواجد السموم الفطرية في سلسلة الطعام والبيئات الداخلية والأمراض التي تصيب الحيوانات بسبب السموم الفطرية مع تقسيم السموم الفطرية طبقاً لمواضع التأثير. كذلك تم الاهتمام بميكانيكية التأثير البيوكيميائي للسموم الفطرية علاقتها بالإنسان التأثير على DNA، RNA، تخليق البروتين، الكربوهيدرات، الليبيدات، الأكسدة الفسفورية والتأثيرات الهرمونية ومع مستوى الانتقال: مع الاهتمام بمسببات السموم الفطرية. هذا إلى جانب نظرة عن طرق تحليل التلوث بالسموم الفطرية في الذرة وفول السوداني بالطرق القياسية. كذلك علاقة الإصابة الحشرية بالتلوث الفطري والتداخل بين

الحشرات والسموم الفطرية وميكانيكيه إزالة سمية السموم الفطرية بواسطة الحشرات، الاهتمام بالسموم الفطرية في اللحوم ومنتجات اللحوم المصنعة. كيفية منع وخفض السموم الفطرية وكذلك كيمياء ومكافحة السموم الفطرية وتأثيرها على صناعة الغذاء. ومن ناحية أخرى اهتم الكتاب بالتشريعات الخاصة بالسموم الفطرية على مستوى العالم في الاتحاد الأوربي وفي دول أوربا وأفريقيا وآسيا والولايات المتحدة الأمريكية. وتم الاستعانة ببعض الأمثلة المصورة لبعض الفطريات المنتجة للسموم الفطرية على المحاصيل المختلفة مقارنة لصور أخرى لفطريات غير منتجة للسموم الفطرية. وفي النهاية المراجع العالمية التي تم الاستعانة بها في هذا المجال. الحمد لله العظيم القدير وشكراً على فضله وتوفيقه أنه نعم المولى والنصير.

أتمنى أن يكون هذا المؤلف هو بداية طيبة في مصر والدول العربية في مجال السموم الفطرية باللغة العربية كيميائياً وبيولوجياً .

المؤلف

أ.د. محمد عبد الفتاح طه ديش



تمهيد

الأمراض الفطرية هي عامل مشترك في النباتات والحيوانات، تنمو الفطريات بنشاط على الجسم وتهاجمه أو تغزوه من عائلها، وهناك وسيلة أخرى يمكن للفطريات أن تسبب ضرراً بدون غزو جسم الإنسان. عندما تنمو الفطريات على الكائنات الحية أو على المواد الغذائية المخزونة التي يستهلكها الإنسان أو الحيوان فقد تفرز نواتج (ميتابوليت) ضاره والتي تنتشر في الطعام. ويعتقد أن الفطريات تطور من الميتابوليت الخاص بها كوسيلة لحماية إمداداتها من الطعام بواسطة منع الكائنات الأخرى من أكله، وهذه الميتابوليت هي السموم الفطرية mycotoxins بمعنى سموم الفطر fungal poisons. الفطريات المنتجة للـ mycotoxins لا تحدث ضرراً في بيئة غير صالحة لنمو الفطريات، ولكن في حالة نمو الفطريات فإنها تنتج السموم الفطرية التي تسبب سمية للحبوب في حالة النمو في مخزن للحبوب. في بعض الأحوال نجد أن بعض الأشخاص التي تبحث عن توفير القليل من المال عن طريق شراء الجبن التي قد تلوثت بنوع من الفطريات، ثم تقطع الجزء المصاب بالفطر وتستهلك (تأكل) الجزء المتبقى، فإن ذلك فكرة غير جيدة حيث من الممكن أن تنتج الفطريات سموماً تنتشر في جميع أنحاء الجبن حتى لو لم تكن الفطريات نفسها موجودة في الجزء المتبقى. تأثير التسمم بالسموم الفطرية mycotoxicoses هو نتيجة لفعل الفطريات نسبياً، والأمراض الناتجة تكون بسبب استهلاك السموم الفطرية المنفردة بواسطة الفطريات وليست نتيجة مباشرة من الفطريات وهذا في حد ذاته ليست مهمة سهلة. مجال البحث بالسموم الفطرية كبير جداً وعلى ذلك فإن الهدف هو إعطاء فكرة عن قائمة بالأنواع الفطرية المنتجة للسموم وملامح السمية المرتبطة بها، والتركيب الكيميائي والحيوي للسموم الفطرية.

على وجه العموم الفطريات هي إحدى العائلات النباتية الشائعة على الأرض ولكنها لا تحتوى كلوروفيل ويمكن أن تنمو في ظروف

غير ضوئية طبيعية أو في ضوء قليل. تتراوح الفطريات من خلايا فردية الى هيفات متفرعة (خيوط أنبوبية tubular filaments) والتي تنتج في الغالب أجسام مثمرة التي تؤدي الى تكوين فطريات العفن molds، عيش الغراب mushroom، فطريات الصدا smut. تمتص الفطريات غذائها إما من العائل الحى أو الميت. تحدث الأعراض وظهور المرض نتيجة نمو الفطريات من التداخل بين العائل والطفيل. الفطريات تنتج ميتابوليت (نواتج ثانوية للنمو) والتي تكون سامة للإنسان والحيوانات، ويحدث التكاثف في الفطريات من خلال إنتاج الجراثيم spores والتي تتكاثر لا جنسياً asexual reproduction.

الحجم الصغير للجراثيم يساعد على انتشارها وتنقل هوائياً وتتحرك بواسطة الرياح من مكان إلى آخر، ويمكن أيضاً تكون مصاحبة للحشرات والطيور والتي بالتالى تنقلها من نبات إلى نبات آخر، وقد يحدث انتقال الفطريات أيضاً بالمعدات الملوثة. تحدث الإصابة الفطرية من الجراثيم عند أى مرحلة من مراحل نمو النبات وإنتاج المحصول، والتي قد تبدأ فى الحقول فى أو على المحصول نفسه، وقد تحدث إصابة المنتجات السليمة أثناء النقل والتخزين بواسطة التلامس مع المعدات الملوثة. قد تبقى الجراثيم غير نشطة فى التربة أو تتراكم على المعدات أو فى وسائل التخزين لمدة شهور وفى بعض الأحيان لسنوات حتى تتوفر الظروف المناسبة لحدوث النمو والإصابة.

يوجد كثير من ظروف بيئية متغيرة تكون لازمة قبل إنبات أو بداية نمو الجراثيم فمثلا الرطوبة النسبية relative humidity أكبر من 70 %، درجة الحرارة أكبر من 30°C (86°F) لفترات ممتدة من أيام الى أسبوع. وجود النبات فى ظروف قاسية مثل ظروف الجفاف، الفيضان، الإصابات الحشرية تعتبر من عوامل دورة النمو الفطرية، وكذلك فإن المحتوى الرطوبى moisture content فى المحصول (20 % أو أعلى فى الذرة) فى الوقت الأمثل للحصاد توفر للجراثيم العوامل الضرورية لبدء عملية النمو. وتلك العوامل

مجتمعة تكون ضرورية لبداية دورة النمو الفطري الذي يتم بعدها الضرر بالمحصول. التجفيف الذي يقلل المحتوى الرطوبي الى نقطة يكون عندها يتم منع نمو العفن أو على الأقل إيقاف حدوث ضرراً إضافياً.

تنمو الفطريات والعفن ذات النمو الزغبي الرمادي على الطعام الذي يترك في الثلاجة لمدة طويلة، وليس من الضروري أن يكون العفن والفطريات ظاهرة للعين المجردة لكي تنمو وتصيب الأغذية والمحاصيل، حيث أن كثير من جراثيم الفطريات الفطريات تكون صغيرة الحجم لا يمكن رؤيتها بدون ميكروسكوب ولكن في المراحل الأخيرة من النمو عندما تتكون كتل فطرية كبيرة تصبح مرئية للعين.

من ناحية أخرى ليس من الضروري وجود سموم فطرية mycotoxins في وجود العفن المرئي في منتجات الحبوب أو العلف. كثير من الفطريات تنمو في ظروف متماثلة ويمكن أن يتواجد أكثر من نوع من الفطريات في نفس الوقت على منتجات الحبوب أو العلف. وفي حالة تواجد أكثر من نوع من الفطريات على عائل واحد فقد تزيد التأثير السام لكل منها بواسطة مهاجمة جميع وظائف الجسم عند أكلها بواسطة الإنسان أو الحيوان، كما يمكن أن تلغى بعضها الآخر بواسطة نمو ومهاجمة البعض للآخر أثناء عملية النمو. من ناحية أخرى، فإن قلة رؤية العفن لا يعنى عدم وجود سموم فطرية mycotoxins حيث أنه في كثير من الأوقات أثناء الحصاد أو التداول يتم مسح العفن ولكن تظل النواتج الثانوية (الميتابوليت) في الحبوب. وتحدث إصابة الإنسان بالسموم الفطرية بطرق مختلفة تشمل تناولها مع الطعام، التلامس معها، استنشاقها، ولكن معظم الدراسات اهتمت بتناول الطعام الملوث.

السموم الفطرية تتميز بخواص كيميائية وفيزيائية مختلفة وتظهر مدى واسع من التأثيرات الحادة والمزمنة على صحة الإنسان والحيوانات. السموم الفطرية ثابتة نسبياً مع الحرارة ولا تتحطم بشكل

ملحوظ بواسطة عمليات الطهي العادية. تأثير السموم الفطرية على الصحة العامة قد يشمل :

- ١- السرطانات Cancers
- ٢- ضرر للمادة الوراثية Genetic material damage
- ٣- تلف الكبد Liver damage
- ٤- تلف الكلية Kidney damage
- ٥- تلف الأنسجة العصبية Nerve tissue damage
- ٦- خلل الولادة Birth defects
- ٧- نقص المناعة Reduced immune function

الفطريات غير المنتجة للسموم الفطرية:

Non – Mycotoxic Fungi:

من المعروف أن الفطريات هي سبب أساسي لتلف الحبوب المخزونة ولقد حدد اتحاد الغذاء والزراعة العالمي أن 25% من محاصيل الغذاء في العالم تتأثر بواسطة السموم الفطرية أثناء النمو والتخزين.

يوجد فطريات تسبب ضرراً للمحاصيل نفسها مع تأثير سام ضعيف أو عدم وجود تأثير سام على الإنسان والحيوانات، على سبيل المثال:

١- مرض الصدأ العام : Common Smut or Bunt

مرض الصدأ العام يسببه نوعان من الفطريات هما

T.leavis , Tilletia triticia

وهذا المرض يلزمه ظروف تربة رطبة باردة، وعلى ذلك يكون أقل مشاكل على القمح الذي يزرع في الربيع عن قمح الشتاء. ومرض الصدأ العام يقلل إنتاج القمح ونوعية الحبوب، حيث أن القمح الملوث بجراثيم هذا المرض يكون له رائحة قوية نفاذة ومظهر داكن. عموماً القمح ذو الرائحة الواضحة لمرض الصدأ يميز بـ light smutty على شهادات الفحص الرسمية. ومن ناحية أخرى فإن جراثيم مرض

الصدأ المنطلقة أثناء عمليات الضم والحصاد تكون قابلة للاحتراق، وقد تسبب حرائق أثناء الحصاد باستخدام آلات حصاد ميكانيكية.

النباتات المصابة تكون متقزمة stunted ولا يمكن تمييز الإصابة حتى يظهر الطرف العلوى heads. الأطراف العلوية المصابة بالصدأ bunted heads تكون حلزونية وتحتفظ بلونها الأخضر مدة أطول عن السليمة، المحيط الخارجى للسنبلة قد يبتعد عن كرات الصدأ smut balls المتواجدة وهذه الكرات تأخذ تقريبا شكل الحبوب العادى ويكو لونها باهت من البنى الى الرمادى، وعند الحصاد تتمزق الكرات الصغيرة وينفرد منها جراثيم سوداء فى صورة مسحوق. القمح المحتوى smut balls يميز بـ light smutty الذى يحتوى (30 - 6 smut balls) أو smutty (31 or more smut balls) على شهادات الفحص الرسمية.

٢- مرض التقزم الصدأ: Dwarf Bunt or TCK Smut

بعض الأنواع الفطرية من الجنس *Tilletia sp.* تسبب هذا النوع من الصدأ فى القمح والشعير والشوفان. *Tilletia controversa* هو فطر معروف أساساً بأنه المسبب لـ dwarf bunt or TCK smut والذى يسبب تقزماً فى نمو النبات نفسه مع نقص الناتج. المصدر الرئيسى لانتقال الإصابة يكون بواسطة الجراثيم غير النشطة الموجودة فى التربة حتى المحصول فى السنة التالية.

٣- مرض بطحة الحبوب : Kernel Bunt

يعتقد أن منشأ هذا المرض فى الهند ويسمى *Tilletia indica* ولكنه تم اكتشافه أيضاً فى أماكن أخرى فى العالم. جراثيم هذا المرض تنتقل هوائياً ولكن الإصابة تحدث عن طريق الزراعة فى تربة ملوثة أو استعمال بذور ملوثة والتلامس مع معدات ملوثة، وتهاجم الجراثيم الحبوب داخل السنبلة مع عدم ظهور علامات

خارجية لأعراض الإصابة أو أعراض بسيطة. تنكمش الحبوب المصابة عند نهاية التجرثم وتغطي بخيوط أنبوبية تشبه الشعر الأبيض والتي تؤدي إلى تلف الدقيق المصنوع من الحبوب المصابة، وهذه الحبوب المصابة يصبح لها رائحة وطعم سمكي يجعل دقيقتها غير عملي للاستعمال.

٤- مرض القمة السوداء / النقطة السوداء:

Black Tip / Black point:

فطر القمة السوداء يهاجم القمح والشعير، الاسم Black Tip أو Black point يرجع إلى عدد من أنواع العفن التي تكون عفن بني غامق إلى أسود. توجد أنواع رئيسية مسئولة عن الإصابة تابعة لكل من *Alternaria*, *Fusarium*, *Helminthosporium* ويعتبر *Helminthosporium* هو الجوهر المسبب لإصابة القمح، والأنواع الشائعة من هذا الفطر تكون مصحوبة بتربة ساخنة جافة. الرطوبة في هذه الحالة تكون في صورة المطر أو فترات ممتدة من الرطوبة العالية (فوق 90%) ثم يبدأ المرض على الحبوب البالغة النمو الذي يؤدي إلى تلف لون البذور وتصبح رائحتها غير مناسبة للتسويق. هذا المرض يكون مصحوباً بلفحة على البادرات وعفن الجذور مما يؤثر على سلامة النبات وزيادة حساسيته لأمراض النبات والعفن الأخرى.

٥- عفن العين الأزرق Blue-Eye Rot

يحدث هذا العفن في الذرة المخزن بمحتوى رطوبى عالي والذي يحدث بواسطة أنواع من الـ *Penicillium* وتتميز الإصابة بتغيير اللون الأخضر إلى الأزرق وذلك عندما تهاجم الفطريات الـ germ area من خلال قمة الحبوب.

٦- صدأ الذرة Corn Smut

يحدث هذا الصدأ بواسطة *Ustilage maydis* الذى يوجد دائماً فى حقول الذرة. لم يلاحظ تأثيرات ضارة على الحيوانات التى تتغذى على العلف المصنوع من الـ Smutty corn.

وفى معظم الحالات فإن جراثيم العفن تكون فى الجو فى أى مكان تبحث عن الرطوبة اللازمة للنمو. الأخشاب الرطبة إذا لم يتم تجفيفها فى خلال 24-48 ساعة فقد تنمو فطريات العفن عليها، ومع الوقت يصبح العفن مرئياً ويبدأ فى تكوين مستعمرات داخل الحوائط والسقف والأرضيات، وقد يبدأ العفن فى التأثير على الإنسان المتواجد فى المكان قبل أن يصبح العفن مرئياً. وبعض جراثيم العفن قد يكون خطيراً جداً خاصة عندما يكون متواجداً بكثرة داخل الأبنية مثل المنازل، المدارس أو أماكن العمل.

يوجد ثلاث طرق لإصابة جسم الإنسان بالعفن السام :

There are three ways toxic mold degenerate human body

١- إزالة الماء من جسم الإنسان بواسطة العفن السام :

1- Molds dehydrating human body:

الطريق الأول لإصابة وتحلل جسم الإنسان بالعفن السام هو إزالة الماء (الجفاف) dehydration والذى يرجع الى امتصاص الرطوبة من الجسم مما يؤدى الى قلة الماء فى الجسم ، ومن المعروف أن جسم الإنسان يمكن أن يظل مدة أطول بدون غذاء عنه بدون ماء مما يؤثر فى العمليات الحيوية فى جسم الإنسان.

٢- تلف المخ والجهاز العصبى المركزى بواسطة السموم الفطرية:

2-Mycotoxins damaging the brain and central nervous system:

الطريق الثانى لإصابة وتحلل جسم الإنسان بالعفن السام هو إنتاج السموم الفطرية mycotoxins والتى تستخدمها فطريات العفن لقتل منافستها

الميكروبية. السموم الفطرية ضارة جدا حيث تضر المخ والجهاز العصبي المركزي في الإنسان ، وكان ذلك سبباً لاستعمال بعض السموم الفطرية في بعض الأسلحة البيولوجية على الأرض مثل T – 2.

٢- تكوين معقدات مناعية تعوق الجهاز الدورى:

3-Immune complexes interrupting circulatory system.

الطريق الثالث لإصابة وتحلل جسم الإنسان بالعفن السام هو إعاقة الجهاز الدورى فى الجسم بواسطة تكوين معقدات مناعية ، حيث فى تفاعل العفن الفطرى الذى يغزو جسم الإنسان فإن النظام المناعى immune system يعمل على تكوين معقدات مناعية أو معقدات بين الجسم المضاد والمادة الغريبة antigen – antibody complexes . فى تلك الأحوال تخلط المادة الغريبة للعفن الفطرى مع الجسم المضاد لها لتكوين المعقدات المناعية والتي تبحث عن وتحطم الميكروبات الغازية microbial invaders. وبزيادة دخول فطريات العفن الى الجسم يزيد تكوين المعقدات المناعية بكثرة والتي تدور فى الجهاز الدورى. وعندما يكون جسم العفن الغريب كبيراً فإن المعقدات المناعية تكون كبيرة والتي فى الغالب تلتصق وتسد الشعيرات الدموية الصغيرة. ومن المعروف أن الشعيرات الدموية هى ممرات تشبه الشرايط العصبية تستعمل لأخذ الدم المحتوى أكسجين oxygenated blood من الشرايين الى الخلايا والأنسجة التى تحتاج الى معدل تيار مناسب من هذا الدم لتجديد نفسها، بينما فى حالة إيقاف معدل سريان الدم فإنه يسبب عدم تجديد الأنسجة وموتها.

عندما يتم تراكم فطريات العفن داخل جسم الإنسان بدرجة أسرع من قدرة الجسم على تنظيف نفسه وكذلك عندما يعيش الإنسان فى بيئة تحتوى فطريات العفن عند مستويات عالية فإنها تتراكم داخل الجسم بسرعة وبدرجة كبيرة عند معدل يعتمد على :

- القوة الوصفية (نوع العفن).
- القوة الكمية (مستوى التركيز من العفن).
- فترة تعرض الجسم.
- مستوى التراكم السابق من العفن الفطرى.

الباب الأول

محاولات مبكرة لإثبات وجود السموم الفطرية Early Trials to Detect Mycotoxins

الباب الأول

محاولات مبكرة لإثبات وجود السموم الفطرية Early Trials to Detect Mycotoxins

لم يتم توثيق السموم الفطرية حتى عام 1960 ومع ذلك كان يشتبه فيها كما في حالة الأمراض منذ فترة طويلة، وذلك من فكرة أن الغذاء المصاب بالعفن يمكن أن يسبب أمراضا للإنسان والحيوانات المنزلية وذلك في الماضي وقبل أن يكون هناك وسائل كافية للتخزين طويل الأجل للسلع القابلة للتلف، حيث كان يتم استهلاك المواد الغذائية بعد وقت قصير من الحصول عليها. ولكن بعد أن أصبح العالم أكثر تقدما صناعيا وتكنولوجيا وأصبح تخزين الغذاء من القضايا الهامة، ويتم تخزين المواد الغذائية لفترات طويلة من الزمن وإعطاء فرصه أكبر للفطريات لكي تلوث الطعام. في إيطاليا عام 1900 اعتقد الباحثون أن استهلاك الذرة المتعفن بواسطة الأطفال يؤدي إلى ظهور وتفشي الأمراض.

ولقد تم دراسة مدى تفشي مرض تعفن الذرة على نطاق واسع في جنوب شرق الولايات المتحدة الأمريكية في أوائل عام 1950 حيث أصيبت مئات من الخنازير البرية التي كانت تتغذى على الذرة المصاب ومات الكثير منها. ولقد تعاون كثير من الأطباء وعلماء الفطريات mycologists لتحديد سبب موت هذه الخنازير، وتم عزل عددا من الفطريات من الذرة المتعفن، وقاموا بتلقيح كل فطر على الذرة الرطب المعقم، وتم اطعامها للخنازير. تبين أن استهلاك الذرة الملقح بالفطر *Aspergillus flavus* يسبب أعراضا خارجية وأضرارا داخلية، فيما يسبب مرض تعفن الذرة moldy corn disease .

على أي الأحوال، كان يحدث تسمم للحيوانات المنزلية التي كانت تتغذى على الذرة المتعفن حتى ولو لم يتم عزل توكسينات toxins، وحدث في إنجلترا قبل عام 1960 موت 100,000 (مائة ألف) من

الديوك الرومى وعددا آخر من من الطيور المنزلية مما تسبب فى خسائر ما يقرب من عدة مئات من آلاف الدولارات وذلك قبل عزل والتعرف على السموم الفطرية، وفى البداية كان يعتقد أن هذا المرض يسببه فيروس تم تسميته Turkey - X disease، X هنا تعنى أن سبب المرض غير معروف. ومع العمل البحثى المكثف وجد أن سبب المرض يرجع إلى الأعلاف المنتجة بواسطة شركة Cake Mills Oil والتي كانت معظمها من الفول السودانى كمصدر ممتاز للبروتين وبالتالى هناك سببا أو عاملا جعل وجبة الفول السودانى سامه، وكان أحد الاحتمالات أنه تم إنتاج مادة سامه بواسطة الفطريات النامية داخل وجبة الفول السودانى، ومن خلال عمليات العزل تعرف الباحثون على فطر *Aspergillus flavus*، ولقد تم تلقيح الفطريات المعزولة مرة أخرى فى الطعام ثم تغذية الديوك الرومى عليه، ولقد ماتت الديوك الرومى بعد فترة بسيطة من التغذية مع ظهور الأعراض الخارجية والأضرار الداخلية وهى نفس الأعراض التى ظهرت على الطيور التى ماتت فى وقت سابق فى الحقل.

على أى الأحوال، قام الكيميائيون بعزل والتعرف على السم Toxin من Oil Cake Mills وقاموا بتسمية السم الفطرى المعزول باسم: aflatoxin(a - from *Aspergillus* , fla - from *flavus*)

ولقد أثبتت إختبارات تغذية الحيوانات على طعام يحتوى aflatoxins أن كل الحيوانات كانت حساسة بدرجات متفاوتة للأflatoxins، وأن استهلاك كميات صغيرة جدا منها أحدثت أضرارا فى الأعضاء الداخلية المختلفة وقد تحفز نشوء وتطور السرطان فى الكبد. وكان ذلك مصدر قلق بين علماء التغذية والمهتمين بمشاكل الصحة العامة مثل منظمة الأغذية والعقاقير (FDA) Food and Drug Administration، وكان هناك قلق كبير على المستوى المحلى والدولى من حيث الأهمية الاقتصادية للفول السودانى وأهميته كمصدر ممتاز للبروتين فى الدول النامية (صندوق الأمم المتحدة لرعاية الطفولة، يونيسيف)

(United Nations International Children's Emergency Fund, UNICEF)

ومنظمات أخرى تشير إلى أن نقص البروتين يؤدي إلى Kwashiorkor وهو عبارة عن اضطراب نقص البروتين في الأطفال ويظهر في المناطق مزدحمة السكان في أفريقيا وأمريكا الوسطى والجنوبية وجنوب آسيا حيث النظام الغذائي يتكون من الخضروات النشوية وبه نقص في الأحماض الأمينية التي تشكل البروتينات الحيوية للنمو، واعتمادا على مدى وظهور الأعراض وفترة النقص في البروتين فإن أعراض الإصابة تشمل: تغييرات في الجلد، انتفاخ البطن، الإسهال، تخلف في النمو، فقر الدم، تصبغ الجلد، فقدان الشعر أو تغيير لونه لدى الأطفال بعد وقت قصير من الفطام مما قد يؤدي في النهاية إلى ضرر وسرطان الكبد نتيجة استهلاك الـ aflatoxins. لقد تم عمل برامج عن طريق مزارعي الفول السوداني والباحثين في الولايات المتحدة عام 1960 للحد من إصابة الفول السوداني ومنتجاته بالـ aflatoxins.

الفطر *Aspergillus flavus* يتكون من 11 نوعا والتي تتواجد في كثير من الأنواع النباتية بما في ذلك الحبوب المخزونة، أحد هذه الأنواع الفطر *A. oryzae* المستخدم من فترة طويلة في المشرق لتجهيز أنواع مختلفة من المنتجات الغذائية مثل صلصة الصويا والتي بدورها تستخدم في الولايات المتحدة، هل الـ aflatoxins موجودة في هذه المنتجات؟ للإجابة على هذا السؤال بدأت الأبحاث سريعة ومستمرة وأصبحت عدد الأبحاث المنشورة كثيرة. ولقد وجد أن الفطر *A. flavus* ينمو مثل باقي الفطريات على الحبوب عند مدى معين من الحرارة ومحتوى الرطوبة التي تكون مناسبة لإنتاج الـ aflatoxins.

في حالة Turkey – X disease فإن الفول السوداني المسنول عن التسمم بالـ aflatoxins كان من أمريكا الشمالية حيث كانت العملية المستخدمة في حصاد الفول السوداني الجاف هي المسنولة

عن توفير البيئة المناسبة للنمو، مع العلم أن فطر *A. flavus* لا يلوث الحبوب في الحقل ولكن بعد حصادها وتخزينها حيث أنه مثل بعض الفطريات المعروفة بفطريات التخزين تحتاج الى رطوبة منخفضة حتى يمكنها غزو الحبوب، وهذا الفطر شائع على نطاق واسع ويمكن الحصول عليه على نبات متدهور. عموما تختلف كميات الـ aflatoxins الناتجة باختلاف المادة الذي ينمو عليها الفطر، فقد تكون الكتلة الفطرية نفسها في كل مادة ولكن تكون كمية الـ aflatoxins الناتجة على الفول السوداني أكبر كثيرا عنها في فول الصويا، يلعب كل من الطقس والمناخ دورا كبيرا في هذا الاتجاه.

الشيء الغريب في بعض الثقافات انها تشجع على نمو الفطريات على بعض الأطعمة من أجل إعطائها المذاق المطلوب فمثلا قبائل البانتو في أفريقيا يفضلون المذاق الحامضي للذرة الفاسدة جزئيا وبالتالي يتعمدوا السماح لنمو الفطر على الذرة السليم لهذا السبب، ومع ذلك قد يكون هذا مجرد مصادفه ولكن لديهم أحداث كثيرة من الاصابه بسرطان الكبد الأولية.

وعلى مدى عدة سنوات تم فحص 100 عينة مختلفة من الفلفل الأسود الكامل أو المسحوق من جميع أنحاء العالم ووجد في العينات المخففة أن عدد مستعمرات الفطر في الفلفل الأسود الكامل أو المسحوق تتراوح 5200 مستعمرة/جرام من الفلفل الأسود والمعدل العالي كان يصل أكثر من نصف مليون/جرام، وكانت هذه المستعمرات في معظمها عبارة عن *A. flavus*, *A. ochraceus*, و *A. versicolor* وهذه الأنواع الثلاثة منتجة للأفلاتوكسين.

والمقارنة بين مستوى المستعمرات الفطرية المعزولة من منتجات الطعام المختلفة نجد مثلا القمح عندما يتم طحنه الى دقيق فإنه نادرا ما يحتوى على أكثر من عدة آلاف من مستعمرات الفطر أما الشعير فإنه يحتوى على 10000 مستعمرة من نفس نوع الفطريات/جرام مثل الفلفل الأسود، وعلى ذلك يتم رفض الشعير لعمليات التخمير في

صناعة البيرة. وإذا كانت الحبوب أو الخبز ملوثة مثل الفلفل الأسود سيكون بها رائحة العفن، ورائحة ومذاق غير مقبول، ومقرزه لأكلها.

عموما استخدام التوابل الطبيعية مثل الفلفل الأسود أو الأبيض تكون قوية بما يكفي لإخفاء الطعم والرائحة من هذه الفطريات، وذلك ينطبق على باقى التوابل الأخرى. أما فى حالة الأغذية المصنعة فى البيوت أو مصانع القرى فإن الفطر *A. flavus* ينتقل من مرحلة الى الذى يليها وتكون السلالات البرية قادرة على انتاج aflatoxins والتي قد تلوث تلك المراحل، وفى مثل هذه التجمعات يكون من المحتمل أن كل فرد يعانى الى حد كبير من التسمم المزمن بالأفلاتوكسين.

فكره عامة عن بعض الفطريات الهامة فى هذا المجال:

Aspergillus ochraceus يتكون من تسعة أنواع وهى شائعة فى التربة وتؤدى الى تدهور النمو النباتى والبذور والحبوب المخزونة والتي تمر بالفساد الميكروبي، وهذا الفطر يتم عزله بنسبة صغيرة من البذور أو الحبوب الفاسدة ميكروبيا حيث من الواضح ليس منافسا جيدا كما هو الحال مع *A. flavus* . *A. ochraceus* تم عزله من قوالب الذره التى تم تطهيرها سطحيا فى الصناديق المصابة سابقا وذلك فى جامعة مينسوتا، ووجد أيضا أن هذا الفطر يشكل الكائن الأكبر فى عينات كبيره من الفلفل الأسود السليم، ولقد وجدت عينات من المكرونة والاسباجتى مصابه بشده بهذا النوع من الفطر، وفطر *A. ochraceus* ينتج مركب ochratoxin الذى وجد له $LD_{50} = 22 \text{ mg/kg}$ للفئران rats والكميه الأقل تسبب أضرارا شديدة بالكبد. أما عند اعطاء جرعة فرديه من هذا المركب بمعدل $12.5 \text{ mg / kg body weight}$ للفئران الحوامل فى اليوم العاشر من الحمل وجد ان فى حوالى عدد 88 فرداً من الأجنه وجد أن % 72 ماتوا، % 81.8 تم إعادة امتصاصها Resorbed. ولقد أظهرت فراخ البط حساسية بالتساوى لكل من ochratoxin، aflatoxin. ومن الفطريات التى تنتج ochratoxin

أيضا هو الفطر *Penicillium viridicatum* ويوجد في الذرة المخزون ويعتبر أكثر شيوعا لإنتاج ochratoxin عن الفطر *A. ochraceus*.

فطر *Asperigillus versicolor* هو أحد فطريات التخزين، ولقد وجد في عينة الحبوب المتعفنة جدا بواسطة هذا الفطر جنبا مع جنب مع بعض أنواع *Asperigillus* الأخرى وبعض الفطريات الخيطية والخمائر. وكان الفلفل الأسود الذي تم تدهوره بواسطة الفطريات كان مصابا بشدة بواسطة *A. versicolor*، ووجد أن هذا الفطر ينتج كثير من الجراثيم على الشعير المنبت في صوب الإنبات مما يؤدي إلى نمو الفطر بكمية كبيرة، وهل يمكن تخيل العمل في مثل هذه البيئة الملوثة واستنشاق تلك الجراثيم. وهذه الأنواع في الظروف المناسبة تنتج المركب السام Sterigmatocystin واسم هذا المركب يرجع إلى أن الفطر كان يسمى *Sterigmatocystis* ووجد أن هذا المركب السام يسبب أوراما في الرئة والكبد والكلى في حيوانات المعمل، كما يسبب أمراضا لعجول الأبقار التي تتغذى على طعام مصاب بشده بالفطر *A. versicolor*، ولقد تم اكتشاف هذا المركب السام في بذور الفاصوليا المتعفنة.

Aspergillus fumigatus أحد مسببات الأمراض الحيوانية وتحدث الإصابة خلال استنشاق جراثيم الفطر وتؤثر على الرئة، وقد تحدث الإصابة أيضا في أجنة الأبقار، وهذا الفطر ينتج ناتج تمثيلي metabolite والذي قد يكون سام toxin أو مضاد حيوى antibiotic وهذا الفطر من الأنواع المحبة للحرارة حيث تتواجد في المادة الأساسية وعلى درجات حراره عاليه تصل حتى 50°C حيث في العادة تتواجد هذه الأصناف على المواد التي تكون في مرحلة متقدمه من التحطيم والتي تكون فيها درجة الحرارة مرتفعه جدا بواسطة التحطم الميكروبي. وتحت الظروف المناسبة فإن فطر *A. fumigatus* ينتج المركب fumagillin، ويستعمل هذا المركب كمبيد أميبي amoebicide، وكوسيلة لتخلص الجسم من الأميبات الممرضة للإنسان، ويستعمل بنشاط مع نحل العسل. على أي

الأحوال، فإن الجرعة الصحيحة من هذا المركب تكون حرجة للغاية (دقيقة جداً) حيث أن الأكثر قليلاً عن المطلوب للتخلص من الأمبيات قد يؤدي إلى التخلص من المريض أيضاً.

Fusarium species تنتشر أنواع الفيوزاريوم في الطبيعة وتدمر النموات الخضريه وتتطفل على كل أجزاء النباتات وتسبب أمراضاً عديدة للنباتات ذات الأهمية الاقتصادية، ومنها أنواعاً تنتج سموم فطريه mycotoxins مثل trichothecenes and zearalenone.

تأثير المركب T-2 , trichothecene كان مصحوباً بانتشار مرض (ATA) alimentary toxic aleukia : المصطلح alimentary toxic يعني وجود السم الفطري المستهلك في الغذاء، aleukia ترجع إلى انخفاض عدد كرات الدم البيضاء في الشخص المتأثر، وظهرت أعراضاً أخرى مثل نزيف من الأنف والحنجرة، ونزيف متكرر من تحت الجلد. الطعام المصاب كان نبات يعطى حبوباً للطعام millet ويشكل جزءاً كبيراً من وجبات الناس في تلك المنطقة من الاتحاد السوفيتي أثناء الحرب العالمية الثانية حيث كان غير مسموحاً أن يترك millet قائماً في الحقول طول الشتاء بسبب الطقس السيء في المطر الذي يمنع حصاده في الوقت المناسب، وخلال أواخر الشتاء وأوائل الربيع فإن millet يصبح مصاباً بالفطريات ومنها فطر *F.tricinctum* وعند استهلاكه فإن آلاف من الناس تأثر بحالات ATA ومات الكثير منهم. ولقد ثبت أن انتشار ATA كان بسبب استهلاك السم المتواجد في صوب millet الذي كان ملوثاً بالفطر *F.tricinctum* وتم إعطاء السم الفطري الاسم الشائع T-2 الذي تم تقسيمه كأحد مركبات trichothecenes، وبتغذية الفئران عن طريق الفم أعطت $LD50 = 3.8 \text{ mg/kg}$ وهي سامه بقدر كاف.

فطر *Fusarium graminearum* من المعروف أن الذرة يستعمل في تجهيز الطعام لمعظم الحيوانات المنزلية وهو مثل باقي

الحبوب معرض للإصابة بالفطريات قبل وبعد الحصاد، والإصابة تؤثر على القيمة الغذائية للذرة كعلف أو غذاء. إذا كان الطقس ممطراً وتم نضج الذرة في نهاية الصيف وبداية الشتاء فإن فطر *F. graminearum* يصيب حوالي 1/2 (نصف) حبوب الكيزان، ومهما كانت كمية كيزان الذرة المصابة فإن كل الحبوب في نفس الجزء تصبح مصابة بشده وتفسد وتتعفن بواسطة الفطر مما يجعلها غير جاذبة للحيوانات المنزلية وترفض أكله وهذه الظاهرة تسمى *refused factor* وبالتالي فإن الحيوانات تفقد وزنها. والذرة المصاب بهذه الطريقة يحتوى مادة تسبب القيء ناتجة بواسطة هذا الفطر، وعندما يتغذى عليه الحيوان فإنه يعاني من تأثير القيء لفترة طويلة والذي معها يرفض أكل زيادة من الذرة، والمادة السامة الموجودة هي *deoxynivalenol (DON)* والمعروفة أيضاً باسم *vomitoxin*.

استعمال السموم الفطرية في الإرهاب البيولوجي **Bioterrorism**:

أولاً : استعمال **Trichothecenes** كسلاح بيولوجي :

خلال منتصف عام 1970 عندما قامت فيتنام بغزو لاوس، كان هناك قصصا عن المطر الأصفر **Yellow Rain** فى المناطق التى فيها تم قتل قرى بأكملها، وقال أحد شهود العيان وعائلته أنهم شاهدوا قصف قريتهم بواسطة الفيتناميين عن طريق طائرات الميج، باستخدام مسحوق أصفر وكان ينزل مثل المطر الأصفر، وبالعودة الى القرية وجد أن معظم الناس وكل الحيوانات ماتوا، وكانت الأجسام تنزف من الأنف والأذن، ووجدت تقرحات بلون أصفر على الجلد. ووجد عدد قليل جداً من الناس على قيد الحياة ولكنهم كانوا يرتعدون مثل السمك عند إخراجهم من الماء، ثم مات هؤلاء الناس فى النهاية. أما الشاهد وعائلته فقد ابتعدوا بعيداً عن القرية ثم شعروا بضيق فى التنفس وآلام مرضيه فى المعدة. اعتقدت الولايات المتحدة الأمريكية أن الاتحاد السوفيتى (وقتها) كان متورطاً فيما حدث وأرسلت فرقاً طبية للبحث والتحقيق، وحتى عام 1980 توصل فريق

من قسم الدفاع الكيميائي الى أن الأعراض الناتجة على ضحايا التفجير كانت مماثلة للأعراض الناتجة من trichothecenes mycotoxosis وقد تم أخذ عينات من الضحايا والنموات الخضرية في المنطقة ووجد أنها تحتوي trichothecenes. وبهذه المعلومات فإن الرئيس الأمريكي رونالد ريغان اتهم الاتحاد السوفيتي بانتهاك اتفاقية جينيف و اتفاقية الأسلحة البيولوجية، وبالطبع كان هناك نفيا من جانب الاتحاد السوفيتي، ومع ذلك استمرت الاتهامات لمدة 3 سنوات. وقد تم جمع عينات متتالية أظهرت تواجد trichothecenes بنسب مختلفة من عينة لأخرى، بالإضافة الى ذلك تم تحليل 100 عينة بواسطة جيش الولايات المتحدة ولم يوجد دليل على تواجد trichothecenes، وفي النهاية اقتنع العلماء أن قصة المطر الأصفر كانت خدعة ونفذها الجيش لزيادة التمويل للصناعات الكيميائية الدفاعية والأسلحة البيولوجية. عموما مشكلة المطر الأصفر مازالت لم تحل بشكل مقنع.

من ناحية أخرى الـ trichothecenes mycotoxins يمكن توزيعها في صورة مساحيق dusts، بالتقيط droplets، ايروسولات aerosols، دخان من الطائرات أو الصواريخ أو الألغام والمدافع والرشاشات، وبسبب خواصها المؤثرة ضد الأشخاص وسهولة انتاجها على نطاق واسع، ووضوح توزيعها بالنظم الهوائية المختلفة فإن trichothecenes mycotoxins خاصة T - 2 toxin لها جهداً ممتازاً لاستعمالها للتسليح. وجد أن توزيعها بجرعات منخفضة فإنها تسبب مشاكل للجلد والعين والجهاز الهضمي، فمثلا كميات بالـ nanogram (خاصة T - 2 toxin) تسبب التهابات جلدية خطيرة مثل erythematic, edema, necrosis. ولقد لوحظ الجلد المصاب بالبثرات skin vesicant في عدد كثير من الناس التي تعرضت لمهاجمة المطر الأصفر، وكانت T- 2 toxin أكثر قوة بحوالي 400 مرة عن الخردل (50ng vs. 20µg) في إحداث أضرار جلدية. كما وجد أن أقل ميكروجرامات من الـ trichothecenes mycotoxins تسبب التهابات خطيرة في العين وتلف القرنية وضعف الإبصار، ولوحظ أن

1/5 - 1/10 من الجرعات المميتة منه يسبب قيء شديد مع إسهال. التأثير المميت لـ T - 2 toxin عن طريق التعرض له في صورة فيروسول يصل إلى 10-50 مرة أكبر منه في حالة حقنه تحت الجلد. أما في الجرعات الأكبر فإن trichothecenes mycotoxins في صورة فيروسولات قد تؤدي إلى موت الإنسان في خلال عدة دقائق إلى ساعة. ومن هنا يمكن استعمال trichothecenes كجوهر سلاح كيميائي في الحروب.

ثانياً : استعمال Aflatoxins كسلاح بيولوجي :

عموماً يمكن استخدام السموم الفطرية mycotoxins في الحرب الكيماوية، ولقد قام العلماء في العراق بتطوير الأفلاتوكسين كجزء من برنامج السلاح البيولوجي لديهم خلال عام 1980 حيث تم تنمية السلالات السامة *A. flavus*, *A. parasiticus* واستخلصت الأفلاتوكسين منها لإنتاج أكثر من 2300 لتر من المادة السامة المركزه، وتستعمل معظم الأفلاتوكسين لتعبئة قذائف الصواريخ والمتبقى يحفظ كمخزون استراتيجي. واختيار الأفلاتوكسين للحرب الكيماوية هو اختيار جيد بسبب زيادة ظهور سرطان الكبد كضربة قاضية في المعارك. واستعمال الحرب الكيماوية والبيولوجية يثير الاستجابة الانفعالية لما يبحث عنه الإرهابيون. علاوة على ذلك، فإن استعماله ضد الأقليات العنصرية مثل الأكراد يكون له تأثير مدمر نفسياً وفيزيائياً على المدى الطويل.

الباب الثاني

تحريف السموم الفطرية

Mycotoxins Identification

الباب الثانى

تعريف السموم الفطرية Mycotoxins Identification

Mycotoxin مشتقه من اليونانية mykes, mukos التى تعنى fungus (الفطر)، اللاتينية toxicum وتعنى السم أى السم الفطرى. والـ mycotoxin هى نواتج تمثيلية ثانوية (ميتابوليت) تنتج بواسطة كائنات حيه من مملكة الفطريات معروفة أساسا بالعفن molds والقادرة على التسبب بالمرض فى الإنسان والحيوانات الأخرى. ولقد وجد أن بعض السموم الفطرية أو مشتقاتها تستعمل كمضادات حيوية، مشجعات للنمو، أنواع أخرى من الأدوية والمخدرات، ومازال بعضها يستعمل كعوامل للحرب الكيميائية.

معظم الفطريات هوائيه (تستعمل الأكسجين) وتتواجد فى كل مكان تقريباً فى كميات صغيرة للغاية نظراً لحجم جراثيمها الصغير جداً، وعندما تتوفر الظروف الملائمة من الرطوبة ودرجة الحرارة فإن الفطريات تتكاثر فى مستعمرات ويتم استهلاك المادة العضوية ويصبح مستوى السموم الفطرية mycotoxins عالياً والتى تضعف العائل المستقبل لها.

إنتاج السموم الفطرية يعتمد على الظروف البيئية المحيطة، وتختلف السموم بدرجة كبيرة فى خطورتها معتمدة على الكائن المصاب وحساسيته، الميتابولزم وميكانيكية الدفاع. السموم الفطرية يمكن أن تظهر فى السلسلة الغذائية كنتيجة للعدوى الفطرية للمحاصيل إما عن طريق أكلها مباشرة بواسطة الإنسان أو تستخدم كعلف للماشية. السموم الفطرية تقاوم بدرجة كبيرة التحلل أو تحطمها فى عمليات الهضم وعلى ذلك تظل فى السلسلة الغذائية فى اللحوم ومنتجات الألبان، وكذلك فإن درجة حرارة المعاملات مثل الطهى والتجميد لا تحطم السموم الفطرية. كل السموم الفطرية عبارة عن

نواتج طبيعیه منخفضة الوزن الجزيئي في صورة ميتابوليت (نواتج تمثيلية) ثانوية تنتج بواسطة الفطريات الخيطية filament fungi وهذه النواتج تشكل مجموعة غير متجانسة كيميائياً أو توكسيكولوجياً والتي قد تسبب أمراضاً وموتاً في البشرية والفقاريات الأخرى، وكثير من السموم الفطرية قد تحدث سمية في وقت واحد لكل اللافقاريات، النباتات والكائنات الأخرى.

نمو الفطريات على الحيوانات العائل تنتج أمراضاً مجتمعة تسمى mycoses بينما تعرض النظم الغذائية، والتنفسية، والجلد إلى ميتابوليت الفطر السامة تنتج أمراضاً مجتمعة تسمى mycotoxicoses والـ mycoses تتراوح من مجرد إزعاج إلى تهديد الحياة العامة، والفطريات المسببة الـ mycoses تنقسم إلى صنفين كالآتي :

١- مسببات أمراض أولية primary pathogens مثل :
Coccidioides immitis and *Histoplasma capsulatum*

٢- مسببات أمراض انتهازية Opportunistic pathogens
مثل :

Aspergillus fumigates and *Candida albicans*

مسببات الأمراض الأولية تؤثر على الأفراد الأصحاء ذوي المناعة الطبيعية، بينما مسببات الأمراض الانتهازية تنتج أمراضاً عن طريق الاستفادة من ضعف العائل أو المناعة المتوسطة. غالبية الـ mycoses التي تحدث للإنسان تكون بواسطة الفطريات الانتهازية. ومع دراسات طبية كثيرة وجد أن المدخل الرئيسي لمعظم الـ mycoses هو الجهاز الرئوي أو نتيجة النمو غير العادي للأنواع المعيشة التي تقيم عادة على جلد الإنسان.

أما الـ mycotoxicoses فهي أمراضاً حيوانية تسببها الـ mycotoxins كأمثله للتسمم بالوسائل الطبيعية وبالتالي تكون مشابهة للأمراض التي يسببها التعرض لمبيدات الآفات أو متبقيات

المعادن الثقيلة، وتعتمد أعراض الـ mycotoxicoses على نوع الـ mycotoxins، مقدار وفترة التعرض، عمر وصحة وجنس الفرد المعرض لها، والعديد من العوامل مثل الوراثة، الحالة الغذائية أو التداخل مع مواد سامه أخرى. ويمكن زيادة شدة التسمم بالسموم الفطرية عن طريق نقص الفيتامينات، نقص السعرات الحرارية، إدمان الكحوليات وفي وجود أمراض معديه. والـ mycotoxicoses يمكن أن تزيد التعرض للأمراض الجرثومية وتتداخل مع غيرها من السموم الأخرى، وعلى ذلك فإن الأمراض الفطرية تسبب مشكلة عالمية خطيرة.

الـ mycoses الناتجة بواسطة مسببات الأمراض الانتهازية تحدث في العالم المتقدم الى حد كبير والتي تحدث عادة في المرضى ذو النظام المناعي المعرض للخطر بواسطة العلاج الطبى المتقدم، بينما الـ mycotoxicoses هي الأكثر شيوعا في الدول المتخلفة وتنتج من تناول الأطعمة الملوثة، ومن تلامس الجلد مع العفن المنتشر على المواد المصابة واستنشاق الجراثيم المنتجة للسموم. ويمكن تصنيف الـ mycotoxicoses على أنها acute or chronic ومن الضروري وجود علاقة بين الجرعة والاستجابة بين السم الفطري والمرضى.

سموم فطر عيش الغراب mushroom poisons:

. على الرغم أن فطر عيش الغراب البرى wild mushrooms يحتوى على مجموعه متنوعة من السموم الفطرية تسمى mushroom poisons وهي بالتأكيد ميتابوليت فطريه التى يمكن أن تسبب موتاً للإنسان وحيوانات أخرى ويمكن استبعادها من مناقشات علم السموم الفطريه mycotoxicology.

فطريات العفن molds (الفطريات الصغيرة micro-fungi) تنتج mycotoxins بينما الـ mushrooms والفطريات الكبيرة تنتج mushroom poisons. التعرض للسموم الفطريه mycotoxins

هو دائما بالمصادفة بينما التعرف الخاطئ على الـ mushroom يسبب تسمم عيش الغراب mushroom poisoning نتيجة جمعه وطبخه نتيجة الخطأ في تعريفه كنوع جيد مما قد يؤدي الى الإصابه بالهلوسة.

ومن المعروف أن *Amanta phalloide* التي تنتج cyclopeptide السامة والمسئولة عن حوالي 90% من الوفيات بسبب عيش الغراب. ومن ناحية أخرى توجد مجاميع سموم فطرية أخرى في الـ mushroom تشمل:

Orellanine, monomethylhydrazine, disulfiram-like, hallucinogenic indoles, muscarinic, isoxazole, and gastrointestinal (GI) – specific irritants.

تصنيف السموم الفطرية:

** عموما السموم الفطرية تشكل تحديا لتصنيفها وذلك بسبب تنوع تركيبها الكيميائي وأصول التخليق الحيوي، تأثيراتها البيولوجية المتعددة، إنتاجها بواسطة عدد واسع من الفطريات المختلفة. ومن هنا فإن التقسيم يعكس ثقافة القائم بالتقسيم:

١- علماء الطب يقسمونها طبقا للعضو المتأثر أو نوع المرض الذي تسببه الى :

Hepatotoxins, nephrotoxins, neurotoxins, immunotoxins,etc.

٢- علماء الخلية وضعوها في مجاميع عامة مثل:

Teratogens, mutagens, carcinogens, and allergens

٣- علماء الكيمياء العضوية حاولوا تقسيمها طبقا لتركيبها الكيميائي مثل : لاكتونات، كيومارين،

٤- علماء الكيمياء الحيوية كان التقسيم طبقا لأصل تخليق البروتين مثل: مشتقات الأحماض الأمينية ، polyketides و.....

٥- تقسيم علماء الفطريات طبقا لنوع الفطريات التي تنتجها مثل :
Aspergillus toxins, *Penicillium* toxins,

عموما أى من هذه التصنيفات غير مرضى تماما، حيث أن نفس المركب قد يوضع فى مجاميع مختلفة، فمثلا أفلاتوكسين aflatoxin قد يكون:

Hepatotoxic, mutagenic, carcinogenic, difuran-containing, polyketide-derived *Aspergillus* toxins.

مركب zearalenone هو *Fusarium* metabolite له نشاط قوى مع أستروجين، وبالإضافة انها سموم فطرية فانه يتم وصفها أيضا بأنها :

Phytoestrogen, mycoestrogen, and growth promotion

فى الوقت الحالى يوجد أكثر من 100 دولة عندها نظم ولوائح بشأن السموم الفطرية فى صناعة الأعلاف وهناك عدد 13 من السموم الفطرية أو المجاميع موضع الاهتمام. عملية تنظيم تقييم السموم الفطرية تشمل مجموعة واسعة من التجارب فى المعامل مثل طرق الاستخلاص والتنظيف والعزل، ومعظم الطرق تعتمد على HPLC ومن خلال طرق معتمدة دوليا. وهذا يعنى أن أى لوائح أو نظم تتعلق بهذه السموم ستكون مع أى بلد آخر التى معها اتفاقات تجارية. وتم وضع كثير من المعايير لطرق تحليل السموم الفطرية بواسطة اللجنة الأوروبية للمعايير European Committee Standardization (ECS). على أى الأحوال فإن تقييم المخاطر علميا سوف يتأثر بالثقافة والسياسة والتى بدورها سوف تؤثر على الأنظمة التجارية للسموم الفطرية.

تم دراسة السموم الفطرية فى المواد الغذائية على نطاق واسع فى جميع أنحاء العالم خلال القرن العشرين، وفى أوربا قامت مجموعة من التوجيهات الأوربية واللجان المنظمة بوضع وتحديد المستويات القانونية لمدى السموم الفطرية المسموح بها فى الغذاء وعلف الحيوان. أما هيئة الأغذية والدواء الأمريكية فقد نظمت وفرضت قيوداً على تركيزات السموم الفطرية فى صناعة المواد الغذائية والأعلاف منذ عام 1985، ومن خلال البرامج المختلفة فإن هيئة الأغذية والدواء الأمريكية تراقب هذه الصناعات لضمان أن السموم الفطرية تتواجد على المستوى العملى، وذلك يشمل المنتجات الغذائية مثل الفول السودانى ومنتجاته، البندق، الذرة ومنتجاته، بذور القطن، والحليب.

بشكل عام فإن التعرض للسموم الفطرية محتمل حدوثه فى أى جزء من العالم يكون فيها طرق غير سليمة لتداول وتخزين المواد الغذائية مع وجود أنظمة غير فعالة لحماية السكان، فمثلاً بعض السكان تعيش فى مباني معرضة لوجود مستويات عالية من العفن.

يجب أن يوضع فى الاعتبار أن طرق مكافحة أو السيطرة على السموم الفطرية تكون وقائية بدرجة كبيرة والتي تشمل الممارسات الزراعية الجيدة وتجفيف المحاصيل بدرجة كافية بعد الحصاد، كذلك البحث عن طرق لمنع تلوث المحاصيل قبل الحصاد ومنها: زيادة مقاومة العائل خلال تربية النبات وخلال زيادة الجينات المضادة للفطريات عن طريق الهندسة الوراثية، استعمال وسائل مكافحة الحيوية، استهداف الجينات فى تطوير السموم الفطرية. وعلى الرغم من ذلك فإن أى من تلك الأساليب والطرق لم تؤدى الى حل المشكلة بسبب أن السموم الفطرية هى ملوثات طبيعية للطعام، وتكوينها فى الغالب لا يمكن تجنبه، ولكن تبذل جهوداً كبيرة تشمل فصل المواد الملوثة بالسموم الفطرية من الإمدادات الغذائية خلال عمليات الفحص وبرامج التنظيم الحكومية.

الباب الثالث

السموم الفطرية الرئيسية

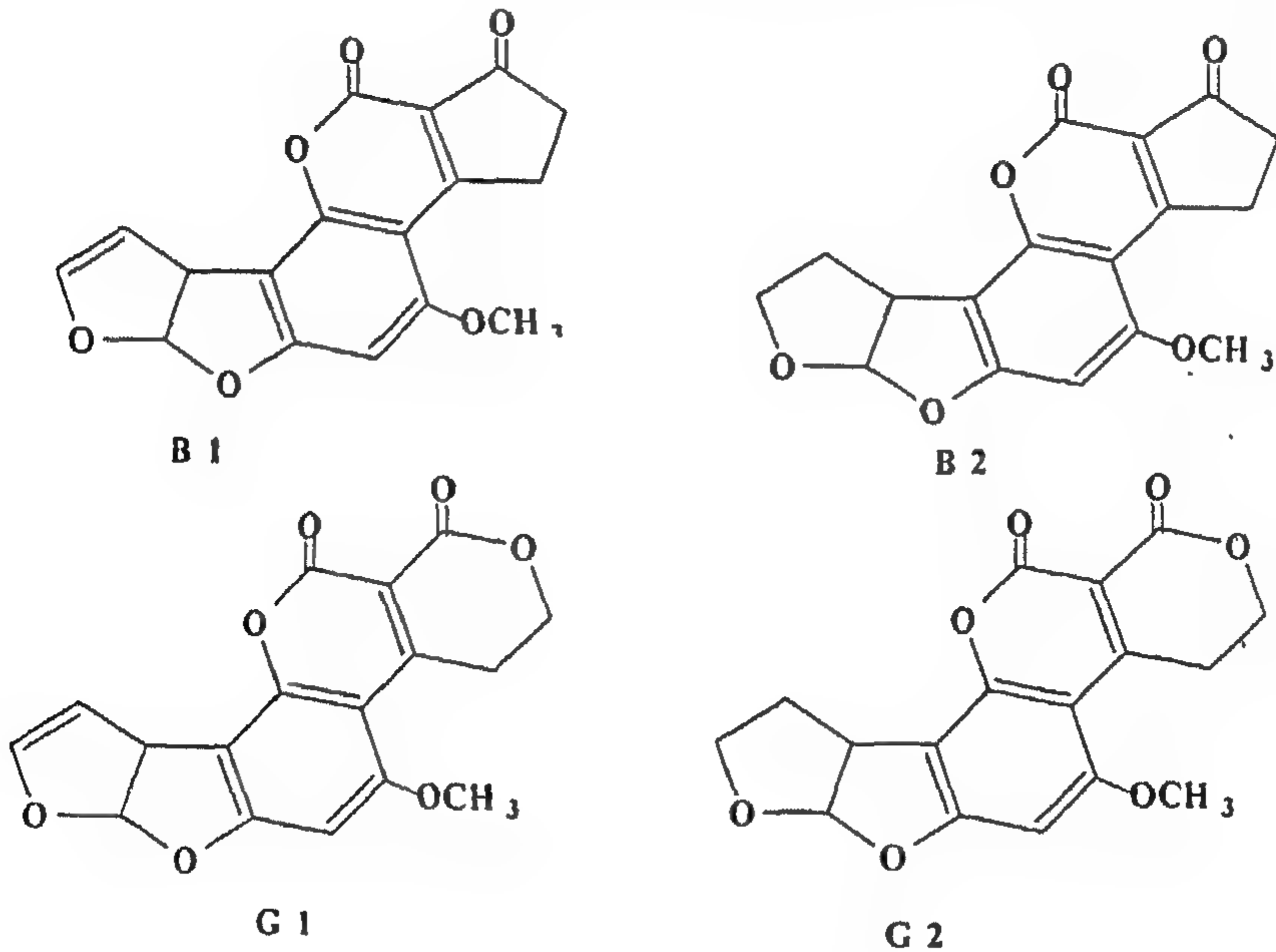
Major Mycotoxins

الباب الثالث

السموم الفطرية الرئيسية Major Mycotoxins

١ - أفلاتوكسين : Aflatoxins

تم فصل والتعرف على أفلاتوكسين بعد موت أكثر من مائة ألف من دجاج تركي بواسطة مرض turkey X، وتم تتبعه بواسطة استهلاك وجبات فول سوداني ملوثة بالعفن، واكتشف أربعة أنواع أفلاتوكسين رئيسية هي: B1, B2, G1, G2 معتمدة على ضوءها الفلورسنتي تحت ضوء الأشعة فوق البنفسجية (أزرق أو أخضر) والتنقل الكروماتوجرافي النسبي خلال TLC.



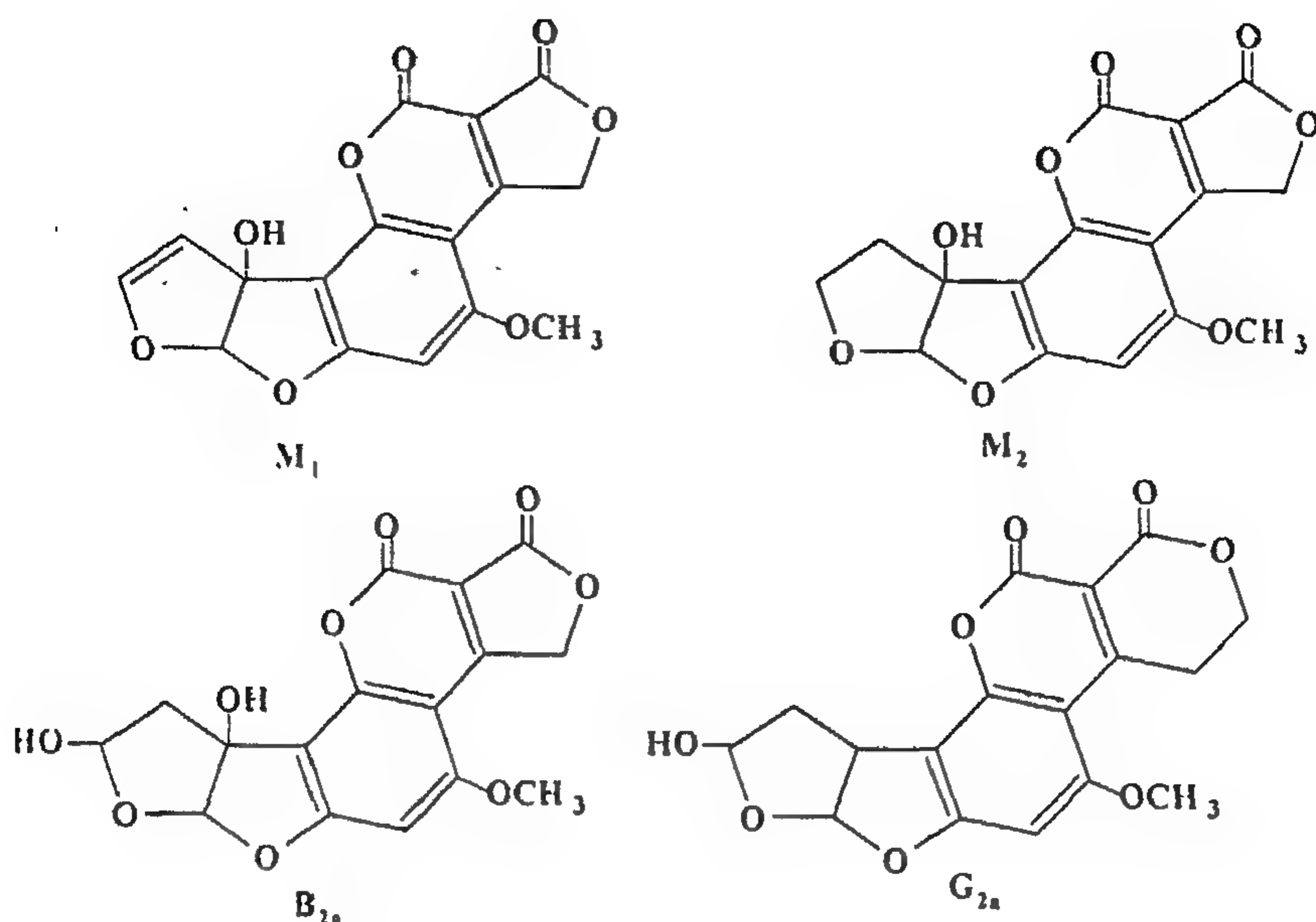
شكل (١) الشكل التركيبي للأفلاتوكسين B1 , B2 , G1 , G2
أفلاتوكسين عبارة عن difuranocoumarin derivatives
تنتج بواسطة polyketide pathway من سلالات كثيرة من

A. flavus وفطر *Aspergillus flavus* and *A. parasitic*.
هو المسنول عن التلوث بدرجة كبيرة في المجال الزراعى . وتعتبر
كل من الفطريات التالية :

A.bombycis, *A. ochraceoroseus* , *A. nomius* , and
A. pseudotamari من الفطريات المنتجة أفلاتوكسين أيضا
ولكنها أقل تواجدا بصورة متكررة . ويوجد اختلافات وصفية وكمية
في قدرات التسمم بواسطة سلالات أخرى داخل كل الأنواع المنتجة
الأفلاتوكسين.

أفلاتوكسين B1 على سبيل المثال هو مادة طبيعية مسرطنه
قويه، وقد تكون الأكثر انتاجا بواسطة سلالات التسمم الجينية
toxigenec strains. ولقد وجد أنواع أخرى من أفلاتوكسين هي :
P1 , Q1 , B2a , G2a كمنتجات حيوية في الثدييات.

التلوث بالأفلاتوكسين يكون مرتبطا بزيادة الموت في حيوانات
الحقل، وتقل بدرجة كبيرة من قيمة الحبوب كغذاء للحيوانات وكمواد
للتصدير . منتجات اللبن قد تكون مصدرا غير مباشر للأفلاتوكسين،
حيث عندما تستهلك الأبقار علفا ملوثا بالأفلاتوكسين فإنها تحول
aflatoxin B1 حيويا الى صورة عليها هيدروكسيل
(hydroxylated form) وتسمى aflatoxin M1. أفلاتوكسين
تكون مصحوبة بتأثير سام وسرطاني في الإنسان والحيوانات،
والأمراض التي تنتج بواسطة أفلاتوكسين تسمى alfatoxicosis،
ومنها الـ acute alfatoxicosis التي تؤدي الى الموت، أما
chronic alfatoxicosis تؤدي الى السرطان، وإيقاف المناعة،
وخلل لبعض العمليات الفسيولوجية. يعتبر الكبد من الأهداف الأولية
المستهدفة، وقد حدث تلف في كبد الدجاج والسماك والقوارض عند
تغذيتها على aflatoxin B1. عموما توجد اختلافات جوهريّة في
حساسية الأنواع، ويتأثر حجم الاستجابة بالعمر، الجنس، الوزن،
النظام الغذائي ومدة التعرض للإصابة وكذلك وجود سموم فطرية
أخرى.



شكل (٢) الشكل التركيبى للأفلاتوكسين M_1 , M_2 , B_{2a} , G_{2a}

AFB_1 النقى مادة بلورية ذات لون أبيض باهت الى الأصفر، عديم الرائحة، يذوب فى الميثانول، الكلوروفورم، الأسيتون، الأسيتونيتريل.

فطر *Aspergillus flavus* ينتج كل من AFB_1 , AFB_2 بينما فطر *A. parasiticus* ينتج AFG_1 , AFG_2 , AFB_1 , AFB_2 . يمكن فصل أربعة مشتقات أخرى بكميات صغيرة من بينات هذين الفطرين هما AFM_1 , M_2 , B_{2a} , G_{2a} . عموماً الأفلاتوكسين تتبع مجموعة إلى difuranocoumarins والتي تقسم الى قسمين طبقاً للتركيب الكيميائى :

- 1) Difurocoumarocyclopentanone series (AFB_1 , AFB_2 , AFB_{2a} , AFM_1 , AFM_2 , AFM_{2a} and aflatoxinol).
- 2) Difurocoumarocyclopentenone series (AFG_1 , AFG_2 , AFG_{2a} , $AFGM_1$, $AFGM_2$ and $AFGM_{2a}$).

جدول (١) الخواص الطبيعية للأفلاتوكسين:

Aflatoxin	Molecular formula	Molecular weight	Melting point
B ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₆	312	268-269
B ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₆	314	286-289
G ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	244-246
G ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	237-240
M ₁	C ₁₇ H ₁₂ O ₇	328	299
M ₂	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	293
B ₂ A	C ₁₇ H ₁₄ O ₇	330	240
G ₂ A	C ₁₇ H ₁₄ O ₈	346	190

• إنزيمات cytochrome P450 تعمل على تحويل أفلاتوكسين إلى الصورة الفعالة 8,9- epoxide والتي تكون قادرة على الارتباط بكل من البروتين DNA. وكيميائياً ترتبط الـ aflatoxin epoxide مع الموضع N⁷ في الجوانين. وكذلك فإن aflatoxin B₁-DNA قد يؤدي إلى تحويل GC (Guanine - Cytosine) إلى TA (Thymine - Adenine).

• إنزيم glutathione S-transferase الفعال الموجود في العصارة الخلوية والميكروسومات يساعد على ارتباط أفلاتوكسين مع الجلوتاثيون المختزل .

• التغييرات في مستوى نظام إنزيم جلوتاثيون ترانسفيراز glutathione S-transferase وكذلك في نظام cytochrome P450 يساهم في الاختلافات الملحوظة في حساسية أفلاتوكسين بين الأنواع، وبسبب هذه الاختلافات في حيوانات التجارب، فإنه من الصعب إستقراء أو توقع الآثار المحتملة للأفلاتوكسين على البشر. ولقد لوحظ تفشى التهاب الكبد

عام 1974 فى الهند والذى توفى على أثره 100 شخص والذى قد يرجع الى استهلاك حبوب الذرة التى كانت ملوثة بشدة بالأفلاتوكسين، وتم حساب الجرعة المميتة الحادة للبالغين بحوالى:

10 to 20 mg aflatoxin /kg body weight

- تم افتراض أن مرض نقص البروتين وهو مرض سوء التغذية القوى قد يكون صورة من تسمم الأطفال بالأفلاتوكسين.

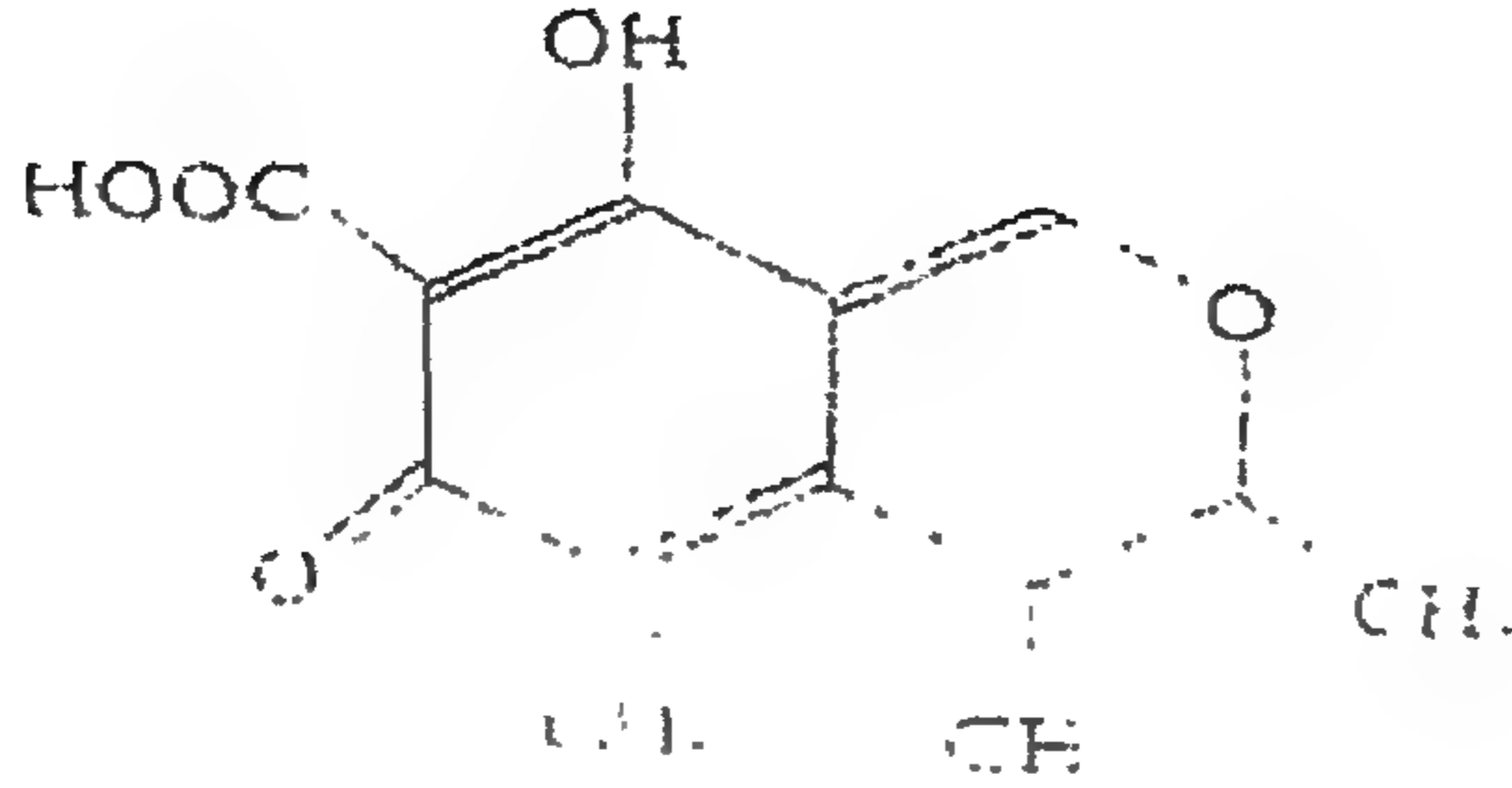
- البيانات عن أفلاتوكسين كمسببات سرطانية للإنسان تكون أكثر انضباطا عن البيانات المرتبطة بسميتها الحادة للإنسان، حيث أن التعرض للأفلاتوكسين يعتبر عاملا هاما لأخطار تطور سرطان الكبد الأولية وخاصة عند الأفراد الذين تعرضوا بالفعل لالتهاب الكبد الوبائى hepatitis B، ولقد ربطت عديد من الدراسات أن حدوث سرطان الكبد يرجع الى استهلاك قدر من أفلاتوكسين فى الوجبات الغذائية. تختلف حالات الإصابة بسرطان الكبد من بلد الى بلد آخر، وكان أكثر أنواع السرطان انتشاراً فى الصين، الفلبين، تايلاند وعديد من بلاد أفريقيا. ويرى البعض بالتطعيم ضد التهاب الكبد الوبائى B بوصفها أثر واقعية وفعالية من حيث التكلفة لخفض معدل الإصابة بسرطان الكبد الوبائى B عن إزالة أفلاتوكسين من الغذاء.

- تحليل السموم الفطرية خلال عمليات الرصد الحيوى أظهرت عن وجود نواتج تمثيل metabolites للأفلاتوكسين فى الدم، اللبن، البول، وعلاوة على ذلك أمكن رصد إفراز DNA and blood protein adducts .

- الـ aflatoxin B – N⁷ – guanine adduct يمثل العلامة البيولوجية biomarker فى البول نتيجة التعرض للأفلاتوكسين ولكنه يعكس فقط التعرض للإصابة الحديثة.

- وتوجد دراسات كثيرة تبين أن الفاعلية العالية للأثر المسرطن لها علاقة مع مدى تكوين DNA adduct الكلى فى الجسم الحى.
- عدم تنشيط جين P₅₃ المانع للورم قد يكون يكون له أهمية فى تطور سرطان الكبد الأوليه حيث وجد أن aflatoxin epoxide النشطة ترتبط مع الموضع N⁷ فى الجوانين، وعلاوة على ذلك فإن aflatoxin B₁ – DNA adduct يؤدى الى تحول GC to TA.
- توجد أدلة كثيرة لارتباط أفلاتوكسين مع نيوبلازما فى الأنسجة خارج الكبد، وخصوصاً الرئتين، حيث فى دراسات مبكرة فى هولندا على العاملين فى تجهيز الفول السودانى والذين يتعرضون إلى غبار ملوث بأفلاتوكسين B₁ ظهرت علاقة بين كل من سرطان الجهاز التنفسى وسرطان الكلى فى المجموعة المعرضة.
- عموماً فى البلاد المتقدمة ومع توافر كميات كافية من الطعام، يوجد نظم لرصد مستويات الأفلاتوكسين فى الطعام لحماية السكان من أخذ وابتلاع كميات كبيرة من الأفلاتوكسين.
- أما فى البلاد التى يواجه فيها السكان فى مجاعة أو نقصاً فى الطعام أو عدم وجود النظم المحددة ، فقط تناول روتينى للأفلاتوكسين من خلال الأطعمة الملوثة، وجد أن معدلات حدوث سرطان الكبد فى الدول النامية من 2 الى 10 مرات أكبر من الدول المتقدمة.

٢- سيترينين : Citrinin



3,4-dihydro-8-hydroxyl-3,4,5-trimethyl-6-oxo-2-benzopyran-7-carboxylic acid, lemon-yellow needles from alcohol, dec. 175° mp., insoluble in water, soluble in alcohol, dioxin, dilute alkali.

أحد السموم الفطرية وتم عزله في أول الأمر من الفطر *Penicillium citrinum* قبل الحرب العالمية الثانية ، وكذلك تم التعرف عليه في أكثر من اثني عشرة نوعا من *Penicillium* ، وبعض أنواع أخرى . من *Aspergillus* مثل *A. terreus*, *A. niveus* . وكذلك بعض السلالات المستعملة لإنتاج بعض المواد الغذائية للإنسان مثل *Penicillium camemberti* المستخدمة في إنتاج الجبنه، وسلالة *Aspergillus oryzae* المستخدمة في إنتاج صلصة الصويا. وحديثاً تم فصل Citrinin من *Monascus ruber* & *M. purpureus* وهي أنواع تستعمل لإنتاج صبغات حمراء .

ال Citrinin كان مصاحباً لمرض الأرز الأصفر yellow rice في اليابان، وله تأثير سام على الكليه nephrotoxins في جميع أنواع الحيوانات المختبره، وتختلف سميته الحادة تبعاً للنوع المختبر، فمثلاً LD₅₀ للبط = 57 mg / kg، وللدجاج = 95 mg / kg، وللأرانب كانت = 134 mg / kg. يعمل ال Citrinin منشطاً ب ochratoxin A لمنع تخليق RNA في كلى الفئران. وتم تسجيل

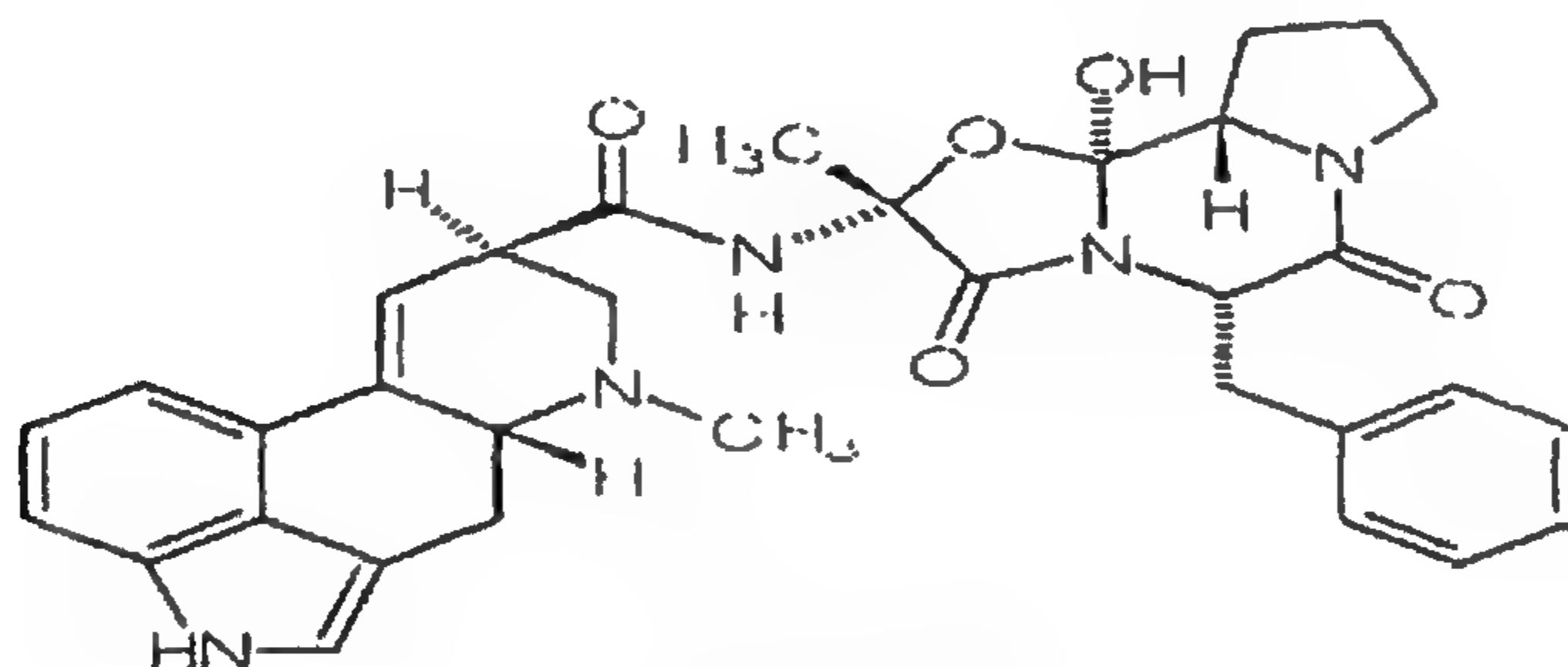
أن القمح والشوفان والشعير والذرة والأرز تحتوى Citrinin الذى وجد أيضا فى الخضراوات الملوثة بواسطة *Monascus pigments* ووجد كذلك فى بعض اللحوم المصنعة من ايطاليا.

٣- Ergot Alkaloids

من الميتابوليت الفطرية المؤثرة، وتنقسم الى:
indole alkaloids tetra cyclic ergoline مشتقة من نظام ring-

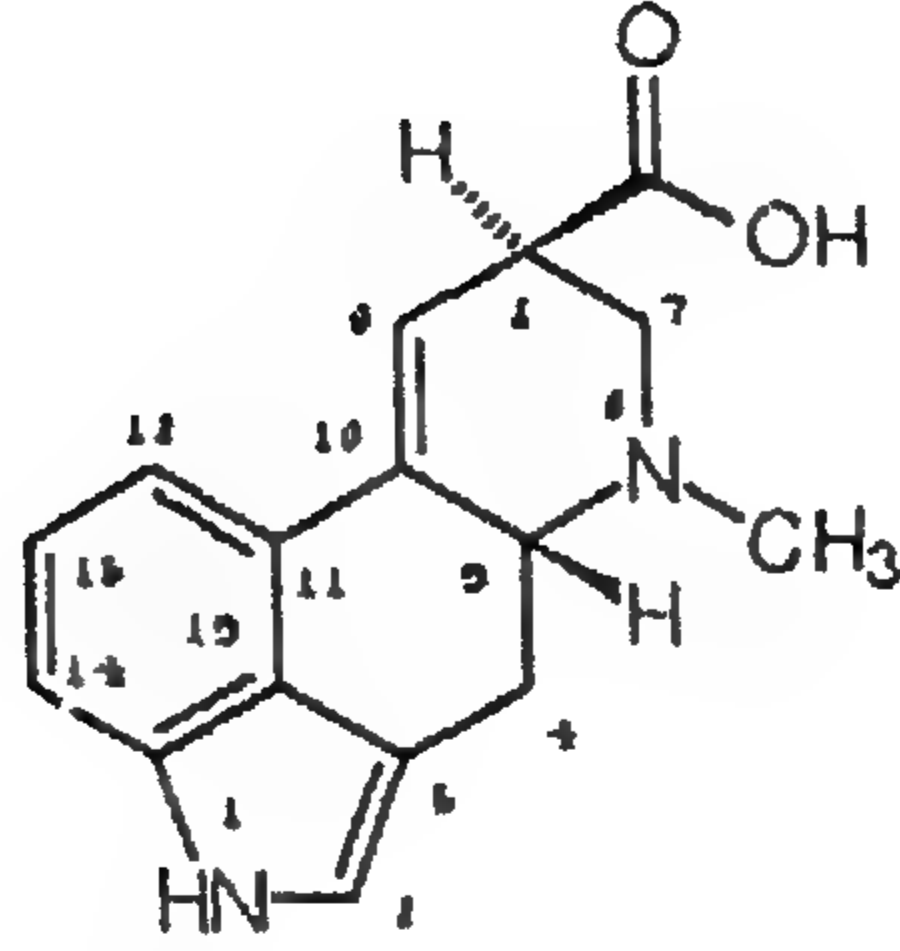
- Lysergic acid وهو تركيب عام لكل الـ ergot alkaloids تم فصله فى عام 1934، Lysergic acid alkaloids تشمل:
ergotamine and lysergic acid amide(ergine)

التركيب الكيميائى لكل من Ergotamine, Lysergic acid كالتالى:



Ergotamine

12'-Hydroxy-2'-methyl-5' - α - (phenylmethyl)
ergotamine-3', 6', 18-trione, $C_{33}H_{35}N_5O_5$



Lysergic acid

9,10-Dihydro-6-methylergoline-8-carboxylic acid

هذه المركبات تنتج كخليط سام من القواعد النيتروجينية في الأجسام الحجرية sclerotia لأنواع من الـ *Claviceps* وهو أحد مسببات الأمراض الشائعة للأنواع النجيلية المختلفة، وفي حالة أكل هذه الأجسام الحجرية المحتوية على ergot من الحبوب المصابه (ergot sclerotia) والتي تكون في العادة في صورة الخبز المصنوع من الدقيق الملوث تكون مصحوبة بمرض التسمم الأرجوتي للإنسان the human ergotism disease المعروف تاريخيا باسم حريق سانت أنتوني، ويوجد صورتان من هذا المرض هما:

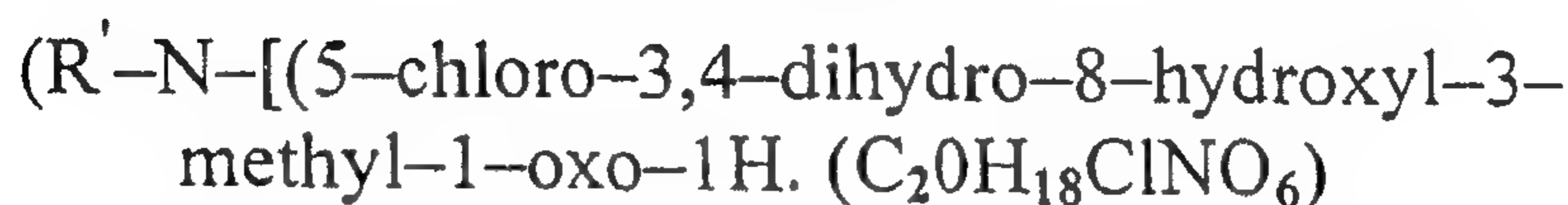
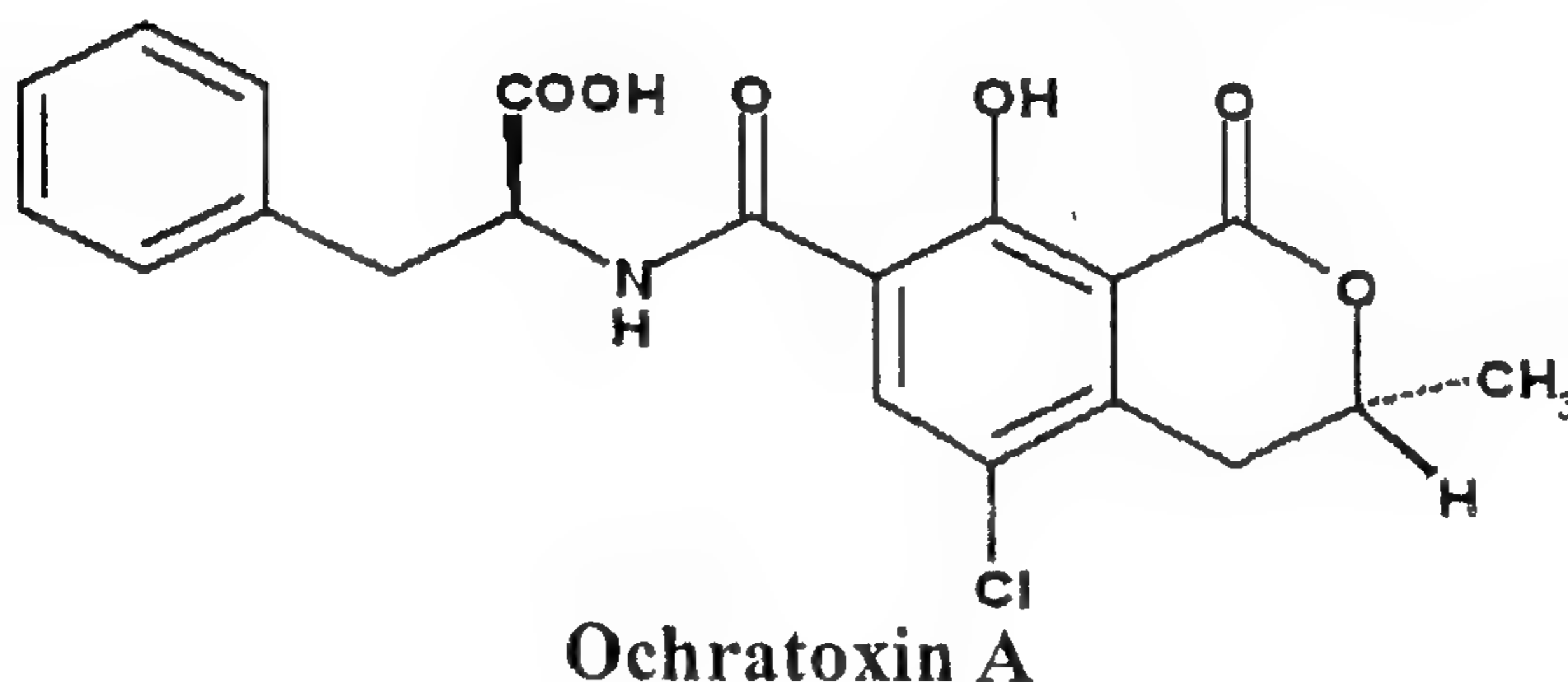
- الغرغرينا gangrenous المؤثرة على إمداد الدم الى الأطراف بطريقة قاسية.
- التشنجات convulsive ergotism الذي يؤثر على الجهاز العصبي المركزي.

الـ human ergotism منتشر في أوروبا في الأعمار المتوسطة، عموما الطرق الحديثه لتنظيف الحبوب تخلصت تقريبا من الـ human ergotism كمرض للإنسان، ولكنه مازال مشكلة بيطرية خطيرة جدا، والحيوانات الأكثر تعرضاً للخطورة هي

الأبقار، الأغنام، الخنازير، الدجاج. الأعراض الطبية لل-
 ergotism في الحيوانات تشمل الغرغرينا، الإجهاض، التشنجات،
 خفض الرضاعة مع حساسية مفرطة. تأثيرات ال- Ergot
 Alkaloids العديدة أثارت اهتمام الأطباء والصيادلة حيث العديد
 منها يسبب انقباض ال- smooth muscle ولقد لوحظ ولزمن طويل
 أن الموشى التى تتغذى على النجيل المصاب بال- ergot يحدث
 إجهاض للحوامل منها.

تم اكتشاف hallucinogen lysergic acid diethylamide
 والذي بخلطه مع الأمينات المختلفه يؤدي الى ارتباط الببتيد مع
 lysergic acid لإنتاج ergobasine وهذا الناتج يسمى
 أيضا (ergonovine and ergometrine) ويعتبر ذلك أول شبه
 تخليقى لل- ergot alkaloids

Ochratoxin A - ٤



تم اكتشاف Ochratoxin A عام 1965 كناتج تمثيلى
 metabolite للفطر *A. ochraceus* وذلك من بين عديد من
 الميتابوليت الفطرية خلال التعرف على سموم فطرية جديدة،
 وبعد ذلك تم عزل هذا المركب من عينات الذرة التجارية

فى الولايات المتحدة الأمريكیه كمادة سامه قویه للكلی potent nephrotoxin. لقد وجد كثیر من أعضاء عائلة الـ Ochratoxin كمتابولیت لأنواع كثیرة مختلفة لجنس *Aspregillus* منها:

Aspergillus alliaceus, *A. auricomus*, *A. carbonarius*, *A. glaucus*, *A. melleus* and *A. niger*

وبسبب أن *A. niger* یستخدم بدرجة كبیره فى إنتاج الأنزیمات وحمض الستریك لاستهلاك الإنسان فمن الأهمية ضمان أن السلالات الصناعیه تكون غیر منتجة لهذه المركبات. لقد ثبت أن الفطر *Penicillium verrucosum* وهو ملوث شائع للشعیر هو الوحید فقط من هذا الجنس منتجاً لـ Ochratoxin.

وكما هو معروف فإن المادة التى ینمو علیها العفن، مستوى الرطوبة، درجة الحرارة ووجود microflora بصفة تنافسیه تتداخل مع مستوى المادة السامة الناتجة. ومن ناحية أخرى وجد Ochratoxin A فى الشعیر، الشوفان، القمح، coffee beans ومنتجات نباتیه أخرى، والشعیر خصوصاً احتمال تلوثه كبیر جداً. ولقد وجد هذا المركب فى النبیذ المصنوع من العنب الملوث بالفطر *A. carbonarius*.

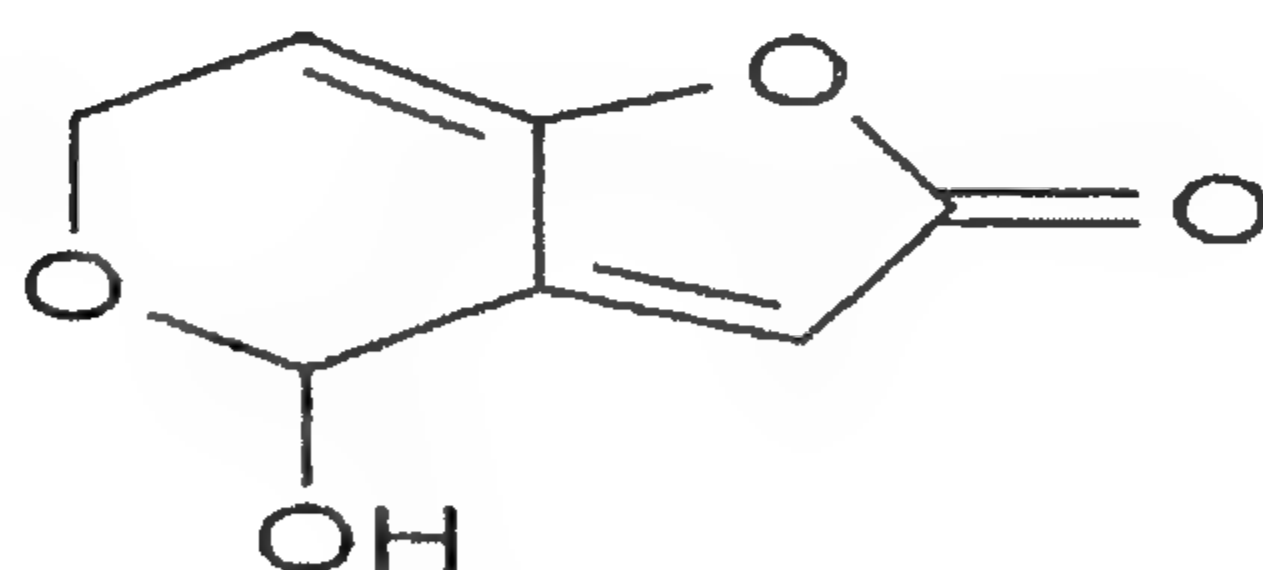
فیما یتعلق بالسموم الناتجة من الجنس *Aspregillus* وجد Ochratoxin A قوى جداً مثل أفلاتوكسین، وتعتبر الكلية kidney أول الأعضاء المستهدفة ولذلك كان ochratoxin A سام للكلی nephrotoxin فى كل الحیوانات التى تمت دراستها. ووجد كذلك فى الحیوانات أن الـ ochratoxin A سام للكبد ومسبب قوى للسرطان والطفرات & carcinogen & potant teratogen وأكثر الاحتمالات سمية للإنسان هو الذى له أطول فترة عمر للتخلص منه.

الـ ochratoxin A یؤدى الى خلل فى فسیولوجیا الخلیه، وتأثیره الأولی يكون مصحوباً بالإنزیمات المتواجدة فى میتابولزم الحامض

الأمينى فينايل ألانين بواسطة تثبيط الإنزيم المتواجد فى تخليق معقد phenylalanine – t RNA، ووجد أيضا أنه يثبط انتاج ATP فى الميتوكوندريا، وينبه أكسدة الليبيدات. ولقد تم اكتشاف ochratoxins فى الدم وأنسجة بعض الحيوانات، وفى اللبن فى الحيوانات والانسان.

توجد أراء أن السموم الفطرية من النوع ochratoxins لها علاقة بمرض endemic Balken nephropathy يصيب الإنسان وهنا يحدث التهاب كلوى مزمن ومتقدم والذي حدث فى السكان التى تعيش فى مناطق مقاربة لنهر الدانوب فى بعض مناطق من رومانيا، بلغاريا ويوغسلافيا سابقا، حيث وجد هذا المركب فى سیرم الانسان عندما كان الطعام ملوثا بالسموم الفطرية من نوع الـ ochratoxins وكان ذلك منتشرا فى العائلات المصابة بأورام القنوات البولية و الـ endemic Balken nephropathy عنه فى العائلات غير المتأثرة. وبالإضافة الى التسمم بالـ ochratoxins فان هذا المرض قد يرجع الى عوامل وراثية، المعادن الثقيلة، وكذلك بعض العوامل الطبيعية غير المعروفة. ولقد قررت اللجنة العلمية للاتحاد الأوربى European Union Scientific Committee أن قيمة خطر تعرض الإنسان لـ ochratoxin A تصل الى مستوى أقل من 5 ng / kg b.w/day

٥- Patulin



Patulin

4 – hydroxyl – 4H – furo[3,2 C] – pyran- 2 – (6H) – one

ينتج الـ ptulin بواسطة مسببات العفن المختلفة، وقد تم فصله في أول الأمر عام 1940 كمضاد ميكروبي نشط من الفطر *Penicillium patulum*، ولقد تم تسمية هذا الفطر بعد ذلك *P. urticae* وحالياً *P. griseofulvum*. وتم فصل الـ ptulin كمادة سامه من الفطر *P. expansum* وكذلك من أنواع فطرية أخرى من *Aspergillus* and *Peacilomyces*، ولقد أعطى أسماء أخرى مثل :

Penicidin, mycocin-C, expansin, claviformin, clavacin

ولقد وجهت الدراسات الأولية على نشاطه كمضاد حيوى، وتم اختباره كرشاش للأنف والحنجرة لعلاج البرد العام، وكمزهرهم لعلاج الاصابات الجلديه الفطريه، وخلال عامى 1950 / 1960. وجد أن ptulin سام للنباتات والحيوانات مانعا تأثيره الطبى كمضاد حيوى، وتم تقسيمه خلال عام 1960 كسم فطرى mycotoxin.

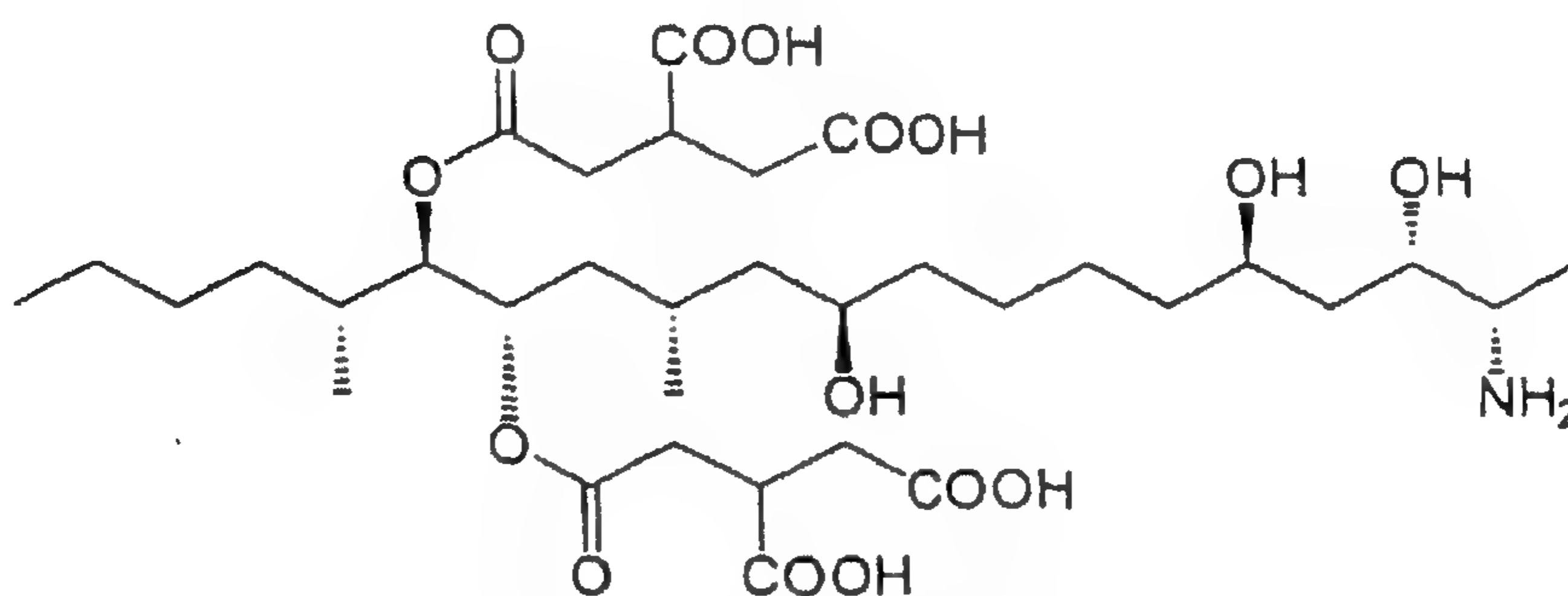
فى الوقت الحالى فإن الفطر *P. expansum* يسبب العفن الأزرق الطرى فى التفاح والكمثرى، الكريز الأحمر والتين، وهذا المركب وجد فى عصير التفاح غير المختمر حيث أنه يتحطم بواسطة عملية التخمير وعلى ذلك لم يتواجد فى مشروب التفاح مثل مشروب سيدر. وجد أن الـ ptulin لم يظهر له تأثير سرطانى إلا أنه وجد يسبب ضرراً لنظام المناعة فى الحيوانات.

على وجه العموم فى عام 2004 وضعت اللجنة الأوروبية حدوداً لتركيزات ptulin فى منتجات الغذاء: $50 \mu\text{g} / \text{kg}$ فى كل تركيزات عصائر الفاكهة، $25 \mu\text{g} / \text{kg}$ فى التفاح الصلب المستعمل للاستهلاك المباشر، $10 \mu\text{g} / \text{kg}$ لمنتجات تفاح الأطفال مشتملة على عصير التفاح. ومن ناحية أخرى فإن لجنة مشتركة من خبراء EAO/WHO قامت بتحديد الحد الأقصى اليومى المقبول من ptulin فى الأغذية هو $0.4 \text{ mg/kg b.w/day}$.

Fusarium Toxins: تنتج سموم الفيوزاريوم بواسطة أكثر من 50 نوع تابعة للفيوزاريوم ولها تاريخ لإصابة الحبوب مثل القمح والذره وتشمل مجموعة كبيرة من السموم الفطرية مثل مركب Fumonisin الذي يؤثر على الجهاز العصبي للخيول وقد يسبب سرطان في القوارض، ومركب trichothecenes الذي له تأثير سام مزمن بدرجة قوية ومميت للحيوانات والإنسان، ومركب zearalenone ليس له علاقة بأي تأثير سام في الحيوانات والإنسان. ويوجد بعض الأنواع الأخرى من *Fusarium Toxins* تشمل:

Beauvercin and enniatins, butenolide, equisetin and fusarins

Fumonisin - ٦



Fumonisin B1

المركب الأكثر انتشاراً من هذه المجموعة هو Fumonisin B1، ويعتقد أنه يتم تخليقه بواسطة تكثيف الحمض الأميني ألانين alanine إلى مشتقات acetates. الـ Fumonisin ينتج بواسطة عدد من أنواع الفيوزاريوم مثل:

Fusarium verticillioides, *F. proliferatum*, *F. nygamai* as well as *Alternaria alternate* f. sp. *Lycopersici*.

Fumonisin يؤثر على الحيوانات بواسطة التداخل مع sphingolipid metabolism ويسبب ثقب وأمراض متعددة في الرأس leukoencephalomalacia في الأرانب، وكذلك يسبب الإديما الرئوية pulmonary edema، hydrothorax في الخنازير، ولها تأثير سرطاني وسام في كبد الفئران.

أما في الإنسان يوجد ارتباط محتمل مع سرطان المرء، ووجود Fumonisin B1 كان له علاقة مع حدوث سرطان المرء بدرجة عالية في كثير من دول العالم مثل جنوب أفريقيا، الصين، جنوب إيطاليا. ولقد تم عزل هذا المركب بمستويات عالية في دقيق وجريش الذرة في سبعة عينات من السوبرماركت من أحد المدن الأمريكية والتي بها أعلى إصابته بسرطان الرئة. تعتبر الـ Fumonisin محبة للماء hydrophilic ولقد تم استخلاصها في الميثانول المائي أو أسيتونيتريل المائي.

٧- Trichothecenes

هذا النوع من المركبات يشكل مجموعة من أكثر من sixty sesquiterpenoid metabolites تنتج بواسطة عدد من الأجناس الفطرية مثل :

Fusarium, Myrothecium, Phomopsis, Stachybotrys, Trichoderma, Trichothecium.

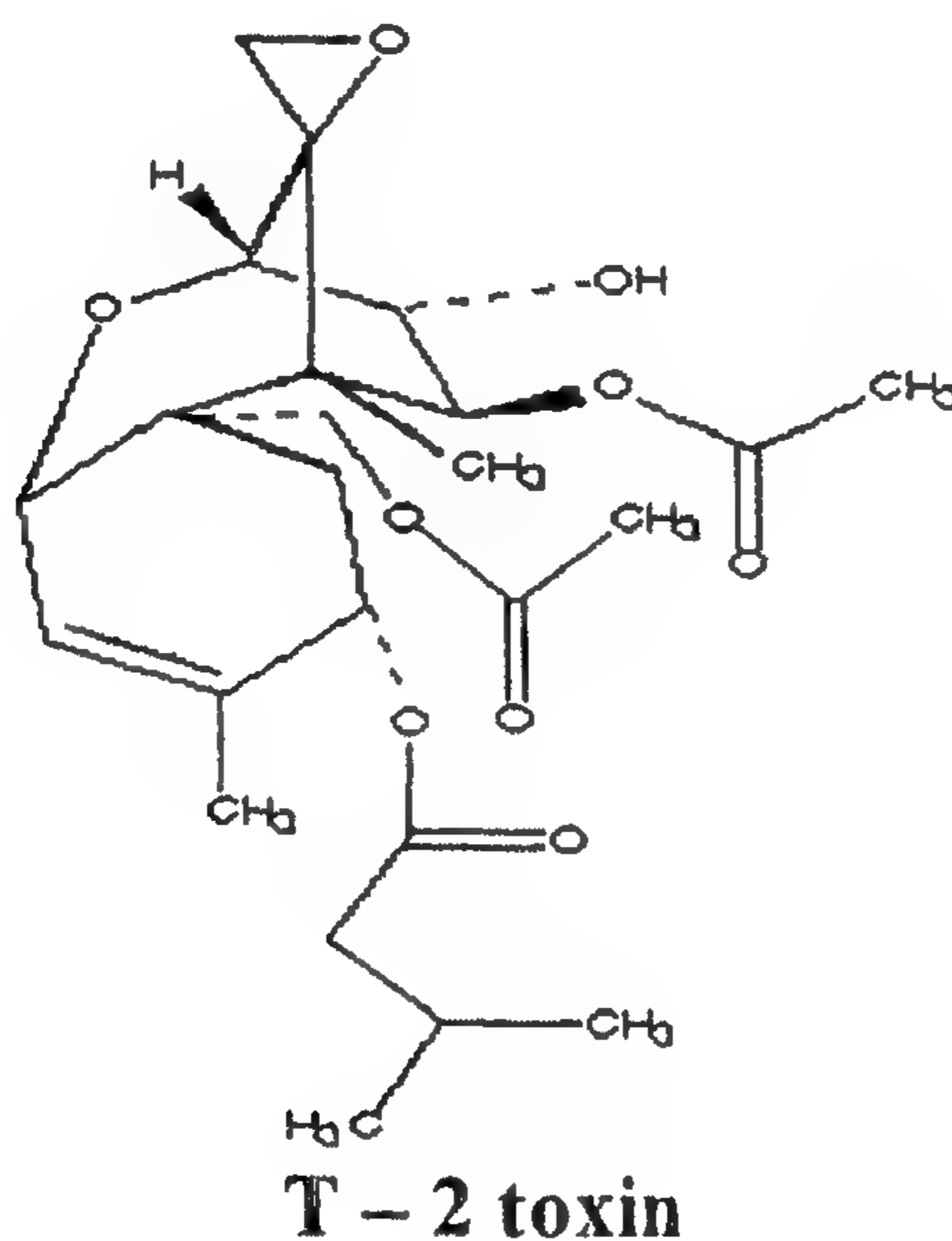
الـ Trichothecene مشتق من الـ Trichothecin الذي كان أحد أعضاء المجموعة المتعرف عليها. كل الـ Trichothecenes تحتوى 12,13-epoxytrichothecene skeleton، ورابطه أوليفيني مع سلاسل جانبية مستبدلة. ولقد وجدت كمكونات شائعة للطعام والعلف، واستهلاك هذه السموم الفطرية قد يؤدي إلى نزيف مع الغذاء وقىء، أما التلامس المباشر يسبب التهابات جلدية dermatitis.

ويمكن تقسيم Trichothecenes إلى macro-cyclic or non-macro-cyclic معتمداً على وجود macro-cyclic ester or an ester-ether bridge بين C_4 and C_{15} .

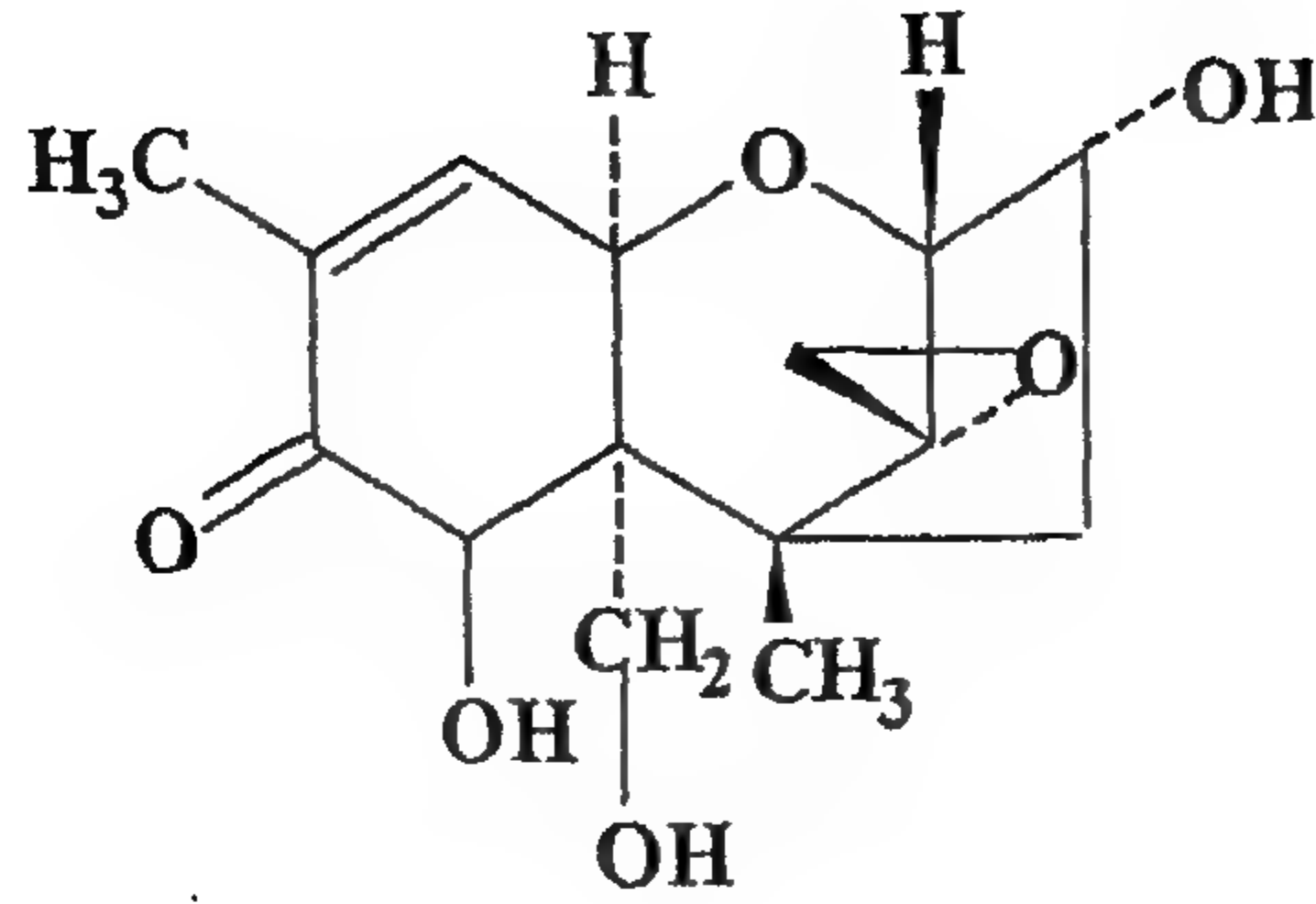
Non – macro-cyclic trichothecenes يمكن تقسيمه بالتالى الى مجموعتين فرعيتين كالتالى:

أ- مجموعة بها هيدروجين أو سلسلة استر جانبية عند الموضع C_8 وتشمل:

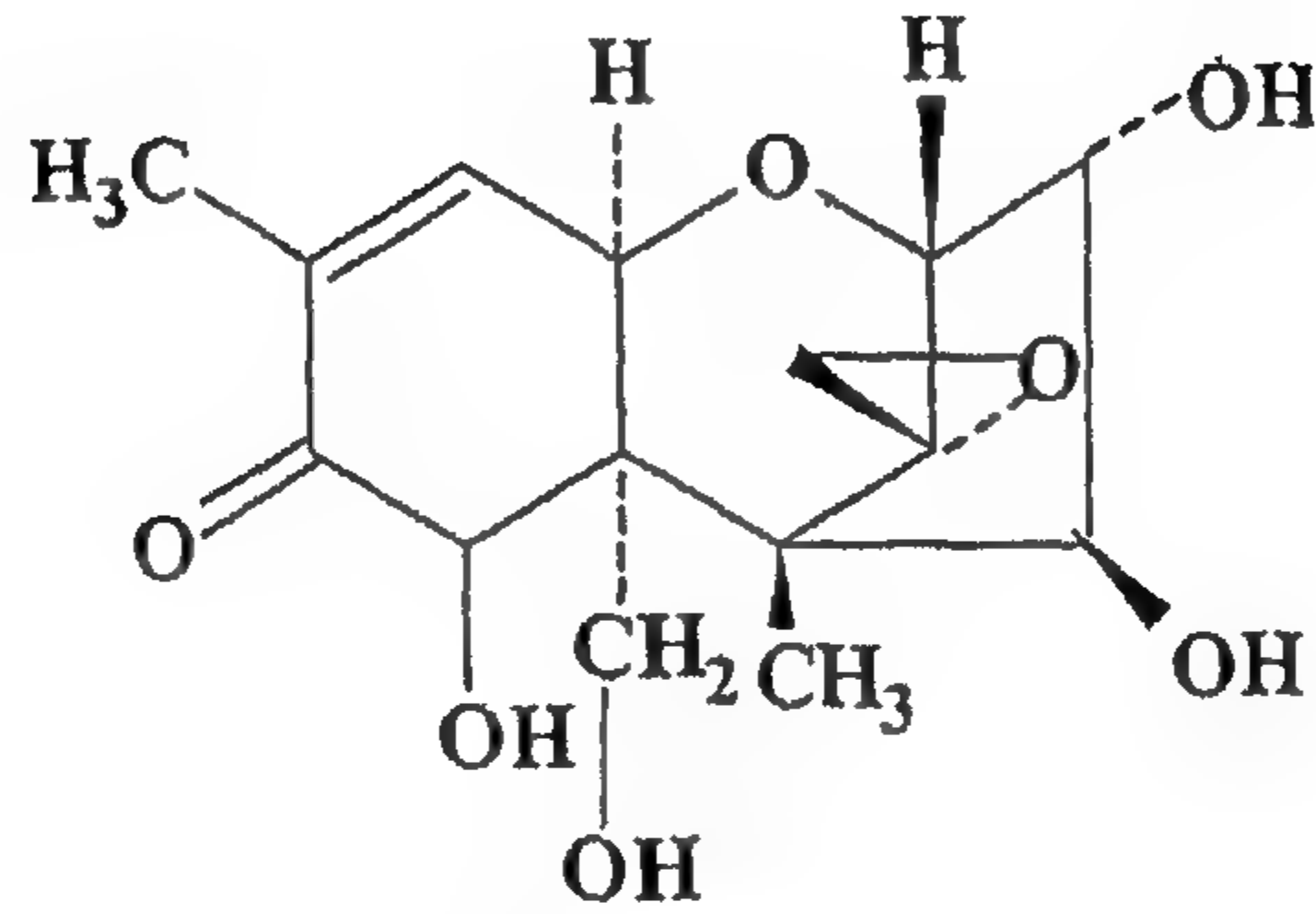
T-2 toxin, neosolaniol and diacetoxyscirpenol



ب- مجموعة تحتوى كيتون وتشمل:
fusarenon-x, nivalenol, deoxynivalenol



Deoxynivalenol



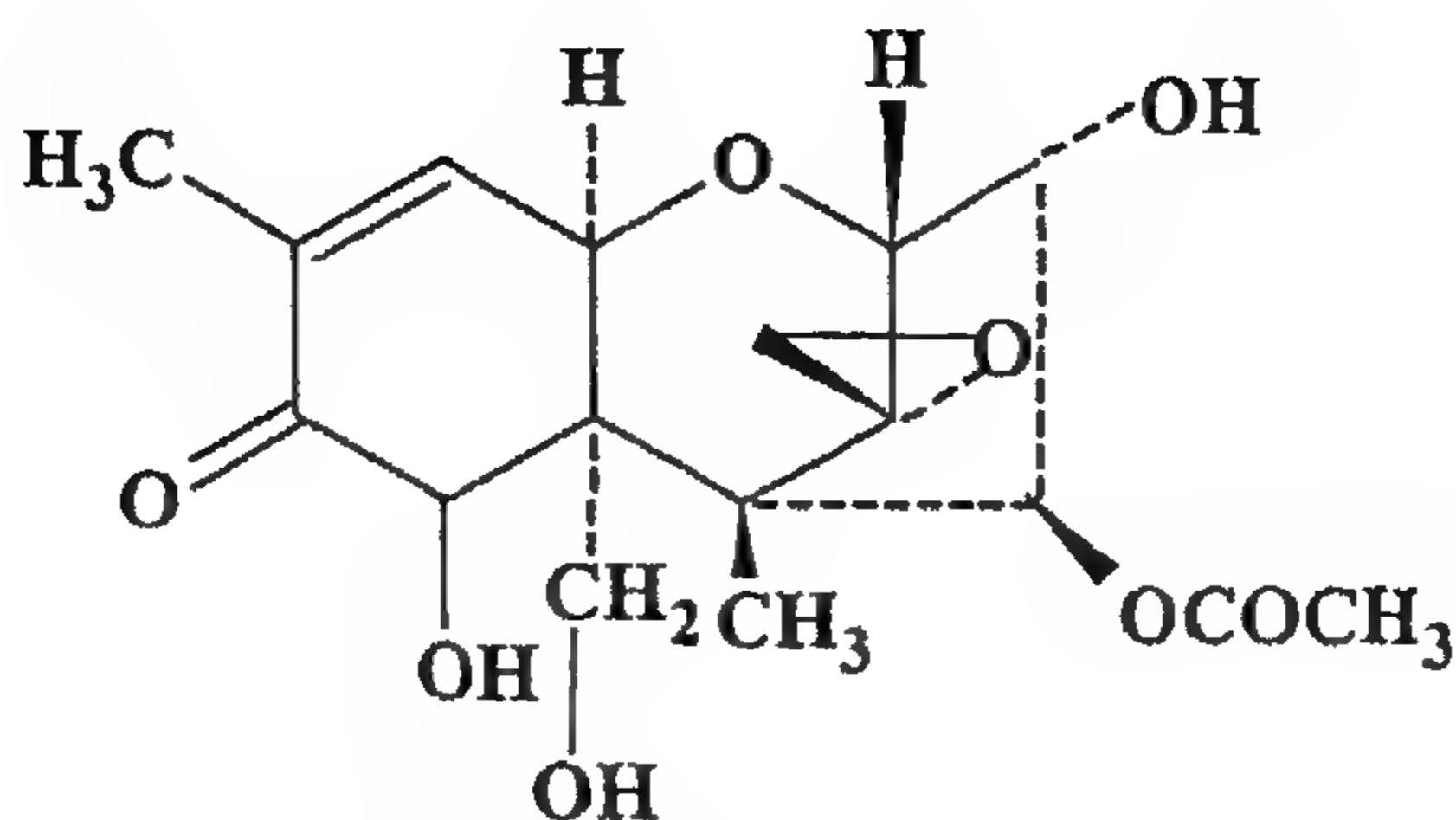
Nivalenol

12,13-Epoxy-3,4,7,15-tetrahydroxytrichothec-9-en-8-one, M.w 312

Nivalenol هو أحد السموم الفطرية من مجموعة trichothecenes المعزولة من *Fusarium nival* حيث يعتبر جنس *Fusarium* المنتج الرئيسي لمجموعة مركبات Non - macrocyclic trichothecenes.

تعتبر مجموعة trichothecenes مثبطات قوية جداً لتخليق الـ eukaryotic protein حيث تتداخل مع جميع مراحل تكوينه.

مركب trichodermin هو أحد المشتقات يثبط نشاط إنزيم peptidyl transferase



Trichodermin

12,13,-Epoxytrichothec – 9– en – 4 ol acetate
 $C_{17}H_{24}O_4$, M.W 292, crystals, m.p : 48–60°C

كل الـ trichothecenes تثبط هذا الأنزيم بواسطة الارتباط لنفس ribosome – binding site، ولها تأثيرات مختلفة لها علاقة بالمجاميع الفعالة المختلفة. ومن ناحية أخرى وجد أن المجموعة 12, 13 – epoxide أساسية لتثبيط تخليق البروتين، بينما اختزال الرابطة المزدوجة 9, 10 – en يقلل السمية.

المركب Deoxynivalenol هو أحد السموم الفطرية الشائعة في الحبوب وعندما تؤكل بجرعات عالية بواسطة الحيوانات الزراعية فإنها تسبب دوار، قيء، وإسهال. أما عند الجرعات المنخفضة فإنها تسبب فقدان الوزن ورفض الطعام ولذلك deoxynivalenol يسمى في بعض الأحيان vomitoxin or food refusal factor.

عموما الأعراض الناتجة بواسطة trichothecenes تشمل تأثيرات على معظم النظم الرئيسية تقريبا من جسم الفقاريات فيما يتعلق بتثبيط تخليق البروتين. وكان كل من T-2 and diacetoxyscirpenol أكثر قوة في الدراسات الحيوانية وبالإضافة إلى نشاطهم الخلوي السام، لهما تأثير موقوف للمناعة يؤدي إلى نقص المقاومة للميكروبات المعدية، ويسببان مدى واسع من الأعراض على الجهاز الهضمي والعصبي والجلد. وافترض أن هذان المركبان قد يكون تأثيرهما مصحوبا بمرض يصيب للإنسان

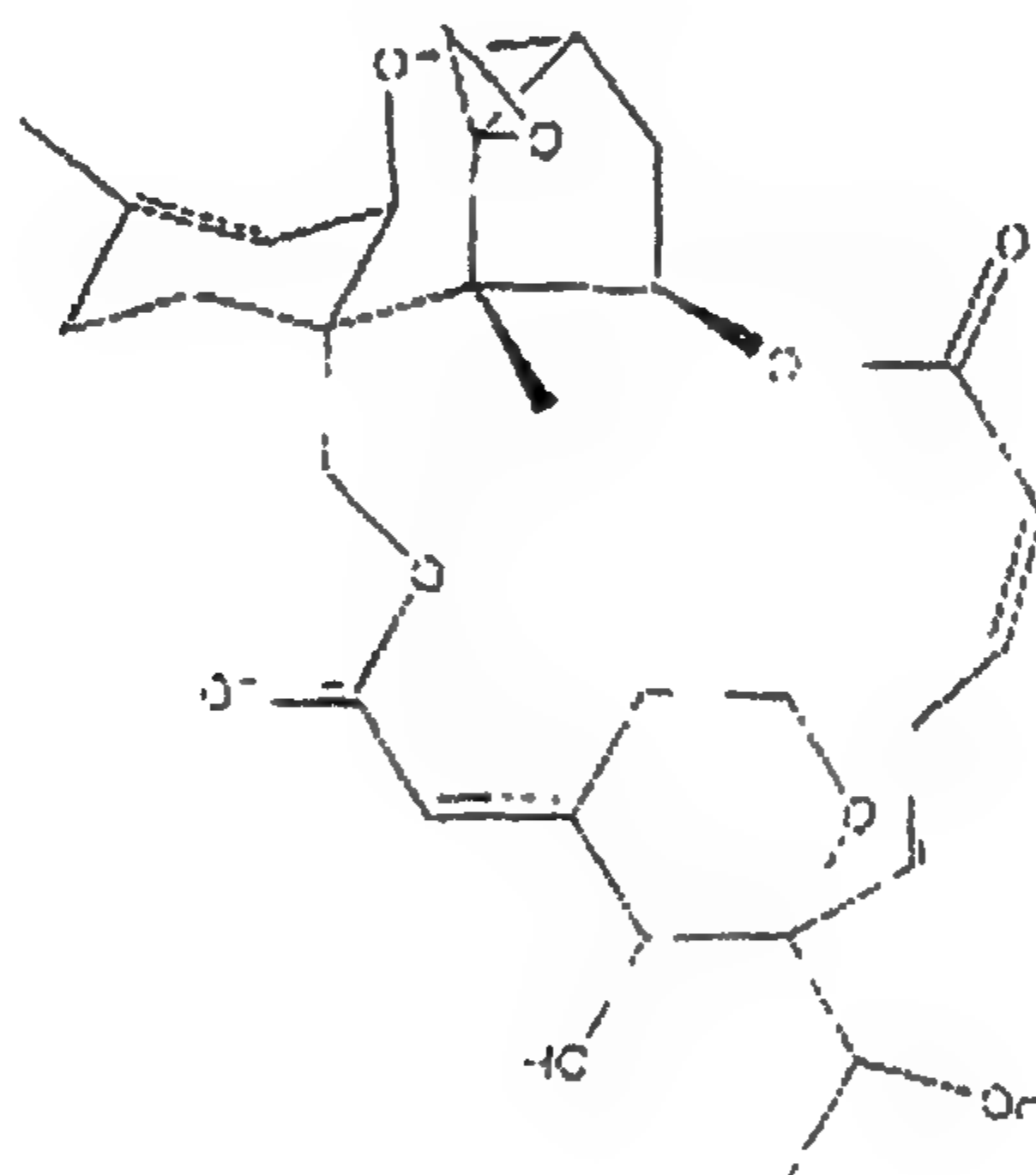
يسمى alimentary toxic aleukia وأعراضه تشمل التهاب الجلد، القيء، وتلف في أنسجة الكبد والصورة الحادة تكون مصحوبة بوجود بثرات في فراغ الفم، نزيف من الأنف والفم والرحم وخلل في الجهاز العصبي المركزي.

الـ macrocyclic trichothecenes تنتج أساسا بواسطة أنواع من:

Myrothecium, Stachybotrys, Trichothecium

والـ trichothecenes الناتجة بواسطة الفطر *Stachybotry arta* (تشمّل السموم التالية: *S. chartarum*)

Satratoxins, roridins, verrucarine, atranones

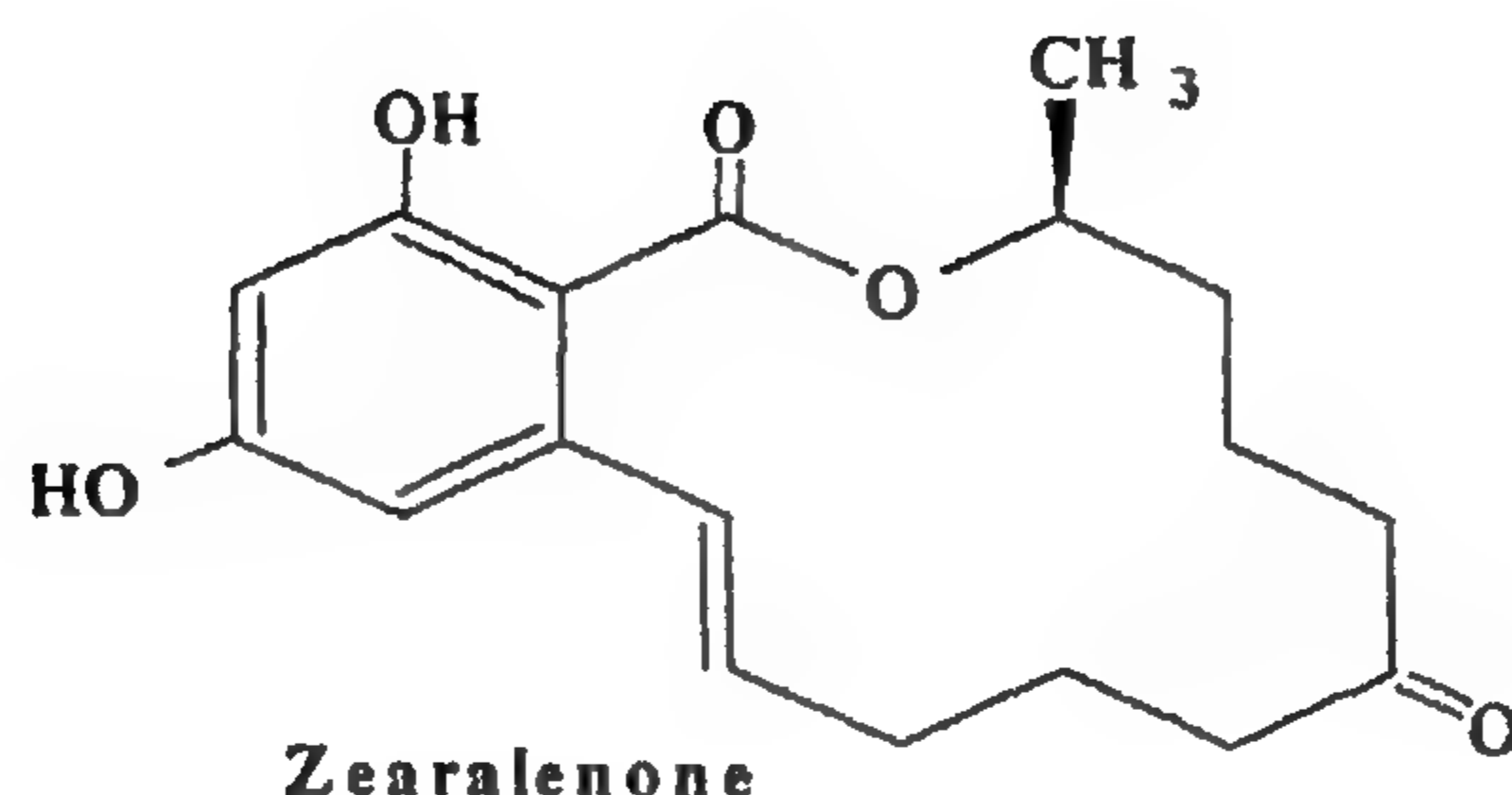


Satratoxins H

وهذه المواد السامة الناتجة بواسطة *Stachybotrys* وصفت في أول الأمر على أنها تسبب مرض للخيول يسبب موتاً بدرجة عالية نتيجة استهلاك التبن المصاب بالعفن، وحتى وقت قريب هذه المواد السامة تسبب أمراضاً مهنية نادرة الحدوث لعمال المزرعة التي تتداول التبن المصاب بالعفن. على الأحوال أصبح واضحاً أن فطريات *Stachybotrys* تنمو جيداً على كل أنواع مواد البناء

الرطوبة ذات المحتوى السليلوزي فمثلا لوحات الجبس الرطبة بالماء،
قرميد الأسقف ceiling tiles، ألواح الخشب المغطاة بالألياف،
وحتى الغبار داخل أنابيب التهوية. ووجود هذا الفطر يكون مصحوبا
بالنزيف الرئوي في الأطفال.

Zearalenone -٨



6-[10-Hydroxyl-6-oxo-trans-1-undecenyl]- β -
resorcylic acid lactone (or)
3,4,5,6,9,10-Hexahydro-14,16-dihydroxy-3-
methyl-1H-2-benzoxacyclotetradecin-1,7(8H)-
dione

Crystals m.p 164–165°C

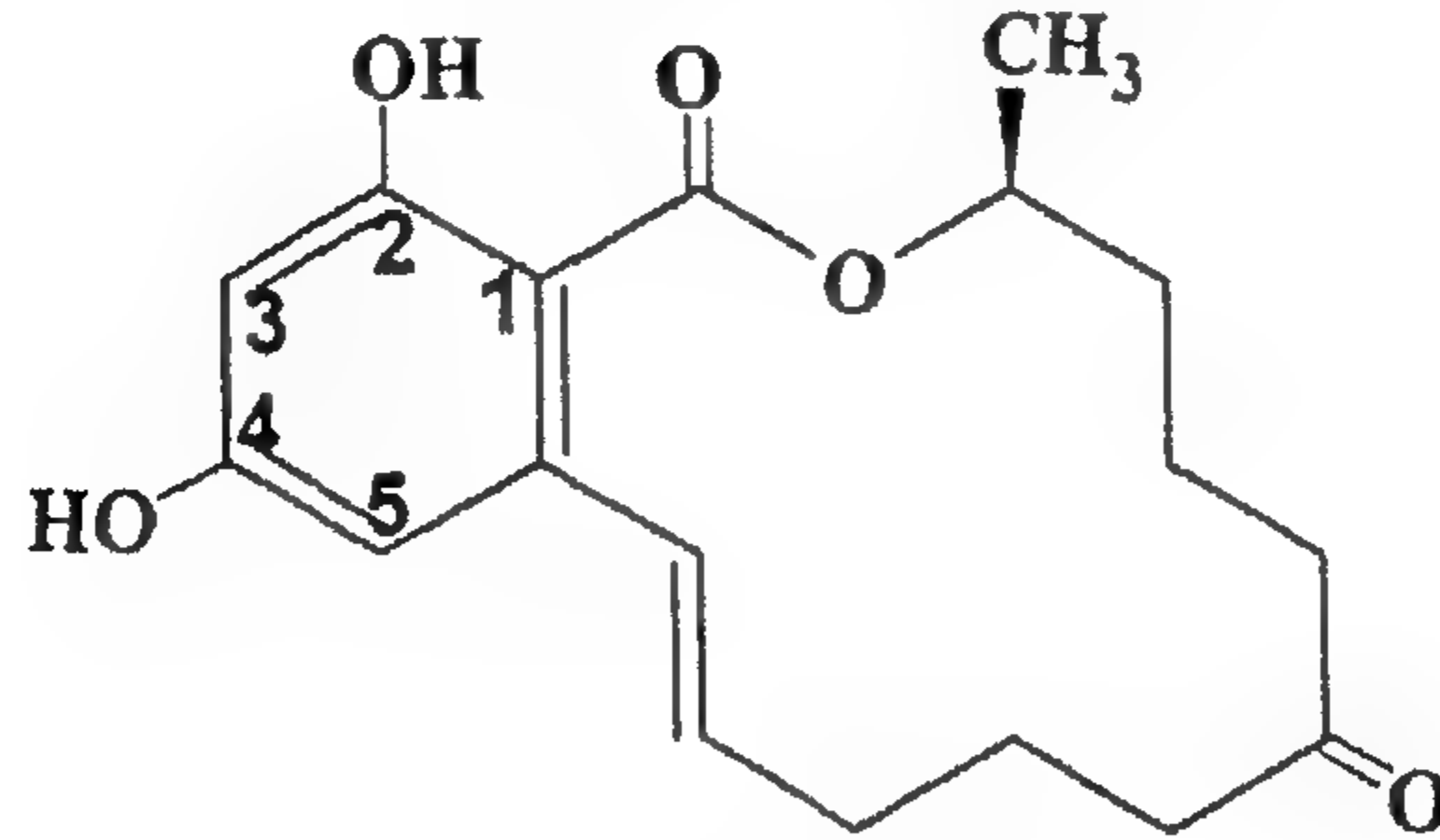
وهذا المركب هو ناتج تمثيل ثانوى (ميتابوليت) من الفطر
Fusarium graminearum (Gibberella zeae)، والاسم
zearalenone مشتق كلاتى من:
en، resorcylic lactone، *G. zeae* - لوجود رابطته
مزدوجة بين C_1 to C_2 ، one - لوجود C_6 ketone. وهذا
المركب معروف أيضا بأسماء أخرى مثل F-2 toxins and RAL
ويصنف المركب zearalenone:

بأنه myco-estrogen or nonsteroidal estrogen وأحيانا يسمى phyto- estrogen.

Zearalenone مادة سامة أولية تسبب عدم الخصوبة، إجهاض ومشاكل كبيرة في عملية النمو والتربية في الخنازير، ويتم تخليق هذا المركب حيويًا من خلال polyketide بواسطة: *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. equiseti* and *F. crookwellense*

وكل هذه الأنواع هي ملوثات مألوفة في محاصيل الحبوب في جميع أنحاء العالم، ويوجد ارتباط بين استهلاك الحبوب المصابة بالعفن وبين إنتاج الاستروجين بدرجة عالية في الخنازير. لقد وجد حديثًا أن تركيزات zearalenone المنخفضة حتى 1 ppm تؤدي إلى hyperestrogenic (استروجين عالي) في الخنازير، أما التركيزات الأعلى تؤدي إلى خلل في عملية الحمل والأجنة مع الإجهاض ومشاكل أخرى، ولقد لوحظ أيضًا مشاكل في التوالد في الأبقار والغنم.

الصورة المختزلة من zearalenone هي Zearalenol والتي تزيد نشاط الاستروجين وتركيبها كالتالي :



Zearalenol

2,4 – Dihydroxy – 6 – (6,10 – dihydroxy – 1 – undecenyl) – benzoic acid μ - lactone

على وجه العموم يلاحظ أن القوة البيولوجية عالية جدا لمشتقات الـ zearalenone ولكن السمية الحقيقية لها منخفضة حيث أن LD₅₀ في اناث الفئران أكبر من 10000 mg /kg وفي اناث خنازير غنيا 5000 mg / kg، بينما أقل من 1 ug / kg تظهر استجابته في رحم اناث الخنازير، كما وجد أن الجرعة الآمنة الموصى بها للإنسان من zearalenone تقدر بـ 0.05 ug /kg body weight/day.

الباب الرابع

السموم الفطرية وصحة

الإنسان

Mycotoxins and human health

الباب الرابع

السموم الفطرية وصحة الإنسان

Mycotoxins and human health

١ - Amanita Toxin

عش الغراب السام (فطر سام toadstool) يسمى mycetismus وكانت مجموعة الـ *Amanita phalloides* من الفطريات الراقية هي المسؤولة عن 95% من حالات الموت بواسطة عش الغراب السام في العالم وكل المواد عبارة عن cyclic polypeptides بأوزان جزيئية تتراوح بين 800 إلى 1100.

الجرعة المميتة من الـ amanithins حوالي 0.1 ug/ kg b. w ومن الـ phalloidin حوالي 2 mg/kg b.w - 1. والفطريات *A. phalloides* تحتوى على حوالي 1.5, 7, 8, 10 مليجرام من الـ phalloidin, α - amanitin, β -amanitin, γ -amanitin لكل 100 جرام من النسيج الطازج .

يوجد مجموعتان من السموم في عش الغراب السام هي:

- Phallotoxins وتتركب من الـ phalloidin and phallin

- Amanitins تتكون من α and β - amanitin

تظهر أعراضاً معوية ومعدية بعد عدة ساعات من استهلاك عيش الغراب السام بواسطة الـ phallotoxins. أما سمية الـ amanitins فهي أكبر حوالي 20-10 مره مثل الـ phallotoxins وتسبب أضراراً كبدية وكلوية hepatorenal damage والتي تؤدي إلى ظهور أعراض متأخرة وفي معظم الحالات تؤدي إلى الموت في النهاية. ويوجد كمون لمدة 6 إلى 15 وقد تصل 20 ساعة. ويظهر المرض في صورة ضرر شديد في المعدة والأمعاء يكون مصحوباً بضعف شديد في القلب، إجهاد عضلي وعقلي مع هياج وغيبوبة ولكنه بعد يوم أو يومان يبدو

تحسن المريض. الظهور المميز لا يحدث حتى اليوم الثالث أو الرابع بعد الاستهلاك عندما يظهر نوع من القلق وعلامات التحلل الموضعي لأنسجة الكبد وقد ينشأ ضرراً شديداً في أنسجة الكلى الانبوبيه وعضلة القلب والمخ وقد يحدث الموت بعد 5-10 أيام والذي قد يرجع إلى فشل الكبد والكلى، تلف المخ مع غيبوبة متصلة أو إيقاف القلب.

٢- Ergot alkaloids

إصابة النجيليات والحبوب بأنواع فطرية من الجنس *Claviceps* ينتج نسيج صلب *sclerotia* (يتكون من تركيب هيفي). حبوب الغلال التي تحتوي *ergot* كانت السبب في ظهور الوباء في أوربا في المائة عام الأخيرة. في عام 1951 فإن الانتشار والظهور المفاجئ لخبز المسمم "bread poisoning" في مدن صغيرة في فرنسا، حيث الشوفان المصاب بالعفن تم بيعه وسط فرنسا بعيداً عن القانون (لتفادي ضرائب الخبث) إلى المطاحن الذين قاموا بطحنه وخلطه مع الدقيق وتم بيعه للمخابز. وفي أغسطس 1951 كثير من الناس أكلت كميات صغيرة من الخبز المصنوع من هذا الدقيق الملوث، وأصبح حوالي 200 فرداً من الناس مريضاً وكذلك كثير من الحيوانات المنزلية والأسماك التي أكلت نفس الخبز وكان 25 فرداً يعانون من حمى شديدة وهياج. ولقد حدث ظهور مفاجئ حديث في أثيوبيا حيث 97 من 42 ألف أصيبوا بال- *ergotism* المميت.

"التسمم الأرجوتزمي *ergotism* هو الذي ينشأ من أكل طعام معدى من أرز أو أى حبوب مصابه بالارجوت".

ال- *Claviceps purpurea* هو الفطر الشائع المنتج ال- *ergot* على القمح والشوفان، يعيش الفطر خلال الشتاء في صورة نسيج صلب، كتله كثيفه من خلايا الفطر وفي العادة فان نسيج الفطر الصلب *sclerotia* تكون أكبر إلى حد ما وأقل كثافة عن بذور العائل النباتي التي تنشأ وتتكاثر عليه.

Ergot Alkaloids هي مشتقات للـ:

lysergic Acid(Ergotamine)
Dimethyl ergoline (agoclacine)
isolysergic acid (ergocristine) أو

التأثير الفارماكولوجي لهذه المركبات فعل سام سريع وقوى حيث تنبه العضلات الرقيقة الملساء في الرحم وتضعف العضلات القابضة الدموية. وصف أعراض الـ ergot poisoning في الأعمار المتوسطة حيث يوجد شعور داخلي بالحرارة والعطش الشديد، قرحات متعددة في الجلد، شعور بالتهاب الأطراف، شعور بالتنميل تحت الجلد، جفاف الأيدي والأذرع والأقدام والأرجل وتحولها إلى اللون الاسمر وقد تصل إلى انحلال عقلي. التسمم الحاد بالـ ergot في الوقت الحالي هي مشكلة أساسية للأكل والأعراض تشمل القيء والإسهال، العطش الشديد شعور بالهياج، حساسية، نبض ضعيف وعدم تركيز. أما التسمم المزمن بواسطة الـ ergot يظهر في صورة صداع نصفي migraine headache. و تصبح الأطراف باردة باهته وفاقدة الإحساس بسبب اختناق في الأوعية الدموية وتؤدي إلى قلة سريان الدم ويصبح المشي مؤلم.

٣- مرض العفن القرنفلي Pink Rot Disease

قد يعرف بأنه عفن الكرفس أو العفن القرنفلي هو مرض فطري ينتج بواسطة الفطر *Sclerotinia sclerotiorum*. ففي عام 1961 تم تسجيل التهابات جلدية نتيجة سمية ظاهرية بين منتجي (حاصدي) الكرفس. ويعتقد أن التعرض لزيت الكرفس وضوء الشمس هو المسئول عن الالتهابات الجلدية وكانت الاصابه شديدة جداً نتيجة تداول الكرفس المتعفن.

تم عزل اثنان من الـ psoralens والتعرف عليها من العفن القرنفلي في الكرفس. الـ psoralens ومجموعة الـ linear furocoumarins تحتوى حلقه فيوران متداخلة عند المواضع 2,3 لذرتي الكربون C₆, C₇ في مركب الكومارين.

المناطق المتأثرة هي الأيدي والأذرع الأمامية، ولكن الأرجل السفلية، الصدر، البطن والظهر تتأثر إذا كان العاملون يرتدون شورت ولا يرتدون قمصان، ويمكن القول أن حدوث التأثير يكون أكبر بعد المطر وقبل استعمال مبيد فطري لمكافحة النمو الفطري على الكرفس ولقد استخدم كل من:

8-methoxypsoralen and trimethyl psoralen

لعلاج المرض الجلدي vitiligo الذي يتميز بظهور بقع بيضاء على الجلد والناجم من الاضطراب الوظيفي للمelanocytes والتي ترجع أساساً إلى فقدان وظيفة tyrosinase system . وفي حالة الإهمال في استعمال الـ psoralen كجوهر لسمر البشرة من التعرض لأشعة الشمس لزيادة سمر الجلد فإن استعمال كميات كبيرة من الجوهر وبعد التعرض للشمس يظهر التهابات جلدية شديدة. ولقد أن وجد أن تناول طعاماً يحتوى 20 mg من 8-methoxypsoralen أو أكثر يؤدي إلى حدوث دوخة وقئ ودوار وإثارة عملية وضرر في الكبد.

٤- Alimentary Toxic Aleukia (ATA)

ظهر في الاتحاد السوفيتي كمرض دموى منذ عام 1913 نتيجة استهلاك الطعام الحامل للمرض من أكل خبز ملوث بفطر الفيوزارييم في سيبيريا وظهر بشكل مفاجئ خلال الحرب العالمية 1941 - 1945. وسميه الشوفان كان لها علاقة بنمو السلالات السامة من فطريات الفيوزارييم على بذور الحبوب التي امتصت رطوبة مع توفر بيئة نمو الفطريات المحبة للصقيع Cryophilic fungi، و لقد اقترح أن epoxytrichothecenes, T-2 Toxin تلعب دوراً في ATA الروسى حيث لو حظ أن تسمم T-2 في الدجاج تشبه سمية السموم الفطرية mycotoxin poisoning المرتبطة بحبوب المطر الروسية.

وجد أن الـ trichothecenes تنتج بواسطة أنواع مختلفة من الفيوزاريم خاصة *Fusarium graminearum (F.roseam)*, *F. moniliforme, etc.* ومركبات trichothecenes هي مجموعة معقدة من الـ Sesquiterpenoid تحتوي نواة الـ trichothecenes التي تتميز برابطة أوليفينية عند الموضع 9,10 ومجموعة epoxy عند الموضع 12,13.

الوصف الروسى لأعراض المرض ينقسم إلى أربعة مراحل التي يبدو فيها المرض ناتج من الضرر السام إلى تأثير دموى، عصب لا إرادي ونظام الغدد الصماء .

المرحلة الأولى :

بداية سريعة لتأثير الإثارة الى الجزء الأعلى من المعدة والأمعاء وذلك بعد ساعات قليلة من تناول وأكل منتجات الحبوب السامة. الطعام الملوث يكون الفلفل الحريف ويعطى إحساس بحرقان الفم إلى المعدة. وفي خلال أيام قليلة تظهر آلام معديه وفي الأمعاء مع دوخه وقىء وإسهال، ويستمر التأثير الموضعى لمدة 3-9 أيام ثم ينتهى تلقائيا حتى مع استمرار المريض التغذية على الحبوب السامة.

المرحلة الثانية :

يحدث انحلال بطيء فى نخاع العظام خلال 9 أسابيع ويظهر نزيف دموى من الجلد، ولقد أثبت فحص الدم نقصاً فى العدد الكلى لكرات الدم البيضاء، وقبل ظهور النزيف يتعرض بعض المرضى لمشاكل فى الجهاز العصبى، إثارة، ضعف، إجهاد، صداع، وخفقان سريع فى القلب مع ربو بسيط.

المرحلة الثالثة:

المرحلة الأكثر خطورة وتأتى فجأة من أربعة مظاهر أساسيه:

- ١- حالة النزيف: نزيف البشرة على الجلد، ومناطق الإبط والفخذ، الأذرع، الوجه والرأس.
- ٢- التحلل الموضعي للأنسجة necrosis في الحنجرة وتنتشر خلال الفم إلى الأوتار الصوتية، والرئة، المعدة والأمعاء.
- ٣- نزيف الدم ونظام النسيج الشبكي الفاسدة تسمح بإصابه بكتيرية في المناطق المتحللة، وتستطيل الخلايا الليمفاوية.
- ٤- إستسقاء في الحلق والحنجرة وضيق في أعلى الحنجرة بسبب ضرر في المريء يؤدي إلى الموت بسبب الاختناق asphyxiation.

المرحلة الرابعة:

فترة الشفاء اذا تم العلاج في مواعيده.

٥- أعراض الأرز المصفر Yellowed Rice Syndrome

انتشر مرض قلبي حاد في ريف اليابان ما يقرب من مائة عام مضت، ولقد تم تسجيل حالات المرض المسمى acute cardiac beriberi (مرض برى برى قلبي حاد ينشأ عن نقص فيتامين ب في الغذاء) واستنتج أن الغذاء كان humn mycotoxiosis.

الـ acute cardiac beriberi كان مرتبطا باستهلاك أرز مقشور polished rice في البدايه كان يعتقد أنه مرض نتيجة نقص الفيتامينات avitaminosis. وفي عام 1910 قامت الحكومة اليابانية باستبعاد الأرز المصاب بالتعفن من الأسواق والمحلات التجارية ف لوحظ انخفاض الاصابه بالمرض المذكور بطريقه كبيره ومفاجئه. واقترح في دراسات أخرى أن هذا المرض ينتج من اكل الـ Yellowed rice ومثل هذه المادة الغذائية أصبحت ملونه وسامه للفئران وتنتج أعراضا مماثله لما يلاحظ في الإنسان المصاب بالبرى beriberi

الفطريات المنتجة للمادة السامة هي:
P. enicillium islandicum - تنتج luteoskyrin and cyclochlorotine
P. citreoviride - تنتج citreoviridin
P. rugulosum - تنتج rugutosin and citrinin
 الصيغة الجزيئية لـ citreoviridin هي $C_{23}H_{30}O_6$ ويحتوى مجموعة ميثوكسى واحده وروابط مزدوجة.

وكانت مظاهر أعراض مرض الـ acute cardiac beriberi تبدو خفقان القلب بسرعة وتنفس سريع ثم دوخه وقئ والتنفس بصعوبة. وفى خلال أيام قليلة يعانى المريض من ألم جسد مبرح والشعور بعدم راحة شديد جداً وانفعال شديد ويحدث تمدد للقلب اليمين ويصبح دقات القلب غير عاديه وانخفاض الضغط الدموى والنبض يكون سريع فقد يصل الى 120 beats/min ويكون المريض ضعيف جداً ويصاب بدوار، ويزداد صعوبة التنفس ويصبح الجلد فى الأطراف بارد، جاف، لونه مزرق ويصبح الصوت مبوحاً وفى النهاية يصبح النبض ضعيفاً مع اتساع حدقة العين.

٦- مرض الكلى فى البلقان Balkan nephropathy

فى عام 1957 إلى عام 1958 ظهر مرض مستوطن مزمن غيز عادى فى الكلى فى يوغسلافيا، رومانيا وبلغاريا مع انتشار نسبة 3-8% فى المناطق الريفية حيث يتم تجهيز الطعام فى البيوت. وكانت شائعة بين الإناث بعمر 30-50 عام ولقد وجد فى يوغسلافيا أن 6-7% من عينات الدم تحتوى مركب ochratoxin A بتركيز يتراوح بين 3 and 5 mg/g serum. اقترح أن السموم الفطرية أو الـ mycotoxins قد تكون العامل البيئى المسبب لهذا المرض للإنسان وأن وجود الـ ochratoxin A فى الغذاء مرتبطاً بمرض الإنسان. المركب السام للكلى يوجد فى الطعام ومواد الطعام هو الأساس فى إحداث المرض وتحطم وضرر الكلية وجد مشابهاً لنفس الأعراض فى البلقان.

الفطريات المنتجة للسموم toxins هي :
Aspergillus ochraceous and *Penicillium viridicatum*

مركب ochratoxin. عبارته عن مشتق لـ dihydroisocoumarin الذي ينتج بواسطة أنواع من الـ *Penicillium* وستة أنواع من الـ *Aspergillus* مشتملة على *A. ochraceous*.

الأعراض الأولية لهذا المرض صداع، كسل، إجهاد وفقدان الشهية. وتظهر أعراض مفاجئة مثل جلد نحاسي اللون، اصفرار راحة اليد والقدم، أنيميا في مرحلة ما قبل زيادة النيتروجين في الدم، مع انتشار الدم في البول ويرجع ذلك إلى أورام في ممرات البول. وأصبح من الواضح أنه مرض مستوطن في القرى مع حدوث أورام في الممرات البولية.

٧- سمية أفلاتوكسين : Aflatoxins poisoning

تاريخيا تم اكتشاف الأفلاتوكسين في إنجلترا عام 1960 كنتيجة لموت 100000 (مائة ألف) ديك تركي صغير (باسم مرض Turkey – X) مع خسارة على الأقل بعض مئات آلاف دولار وقد تم تتبع المشكله إلى تلوث الغذاء خاصة المستورد بالسفن من الوجبات البرازيلية من الفول السوداني المستعملة كغذاء للدواجن والمنتجة بواسطة مطاحن الـ Old Cake Mills في لندن وسميت هذه الوجبة Rosetti (من اسم السفينة المستوردة عليها). ولقد كانت هذه الوجبة مسببه للسرطان ولقد وجد أنها ملوثة بأحد الفطريات المعروفة *Aspergillus flavus*.

ولقد تم استخلاص وعزل المادة الفعالة من *A. flavus* بواسطة مجموعه من الباحثين في إنجلترا وهولندا عام 1962 وتم التعرف

عليها كيميائياً في الولايات المتحدة عام 1963 وسميت aflatoxin حيث (a) من *Aspergillus* و (fla) من *flavus*.

وتعتبر الأفلاتوكسين مجموعة من النواتج التمثيلية الفطرية الثانوية sec. fungal metabolites والتي تؤدي إلى حدوث وباء كسموم بيئيّه ومسببات سرطانية للإنسان. وهى عبارة عن حلقات كومارين مستبدل عليها ومندمج بها جزء ثانى هيدروفيوران.

Substituted coumarins containing fused dihydrofuran moiety.

يوجد أربعة أنواع أوليه من الأفلاتوكسين هي B1, B2, G1 and G2 على التوالي من لونها الأزرق والأخضر الفلورسنتى على الـ TLC plates. ويمكن ترتيب الأفلاتوكسين من ناحية قوتها على السمية والقدرة على أحداث السرطان كالتى :

AFB1 > AFB2 > AFG1 > AFG2

وذلك على أساس قدرة الأفلاتوكسين على تحفيز انتاج الطفرات والضرر بـ DNA.

٨ - النواتج الحيوية للأفلاتوكسين : Aflatoxin metabolites

١- AFM1 :

هو ناتج من إضافة هيدروكسيل إلى AFB₁ عند الموضع 4، وقد تم اكتشافه أول الأمر فى لبن الأبقار التى تغذت على غذاء يحتوى AFB₁، وكذلك تم اكتشافه فى بول الإنسان المستهلك زبدة الفول السودانى الملوثة بـ AFB₁. AFM₁ قد يحفز تكاثر أنسجة القناة الصفراوية بطريقة غير متساوية.

ب - Hemiacetal AFB_{2a}

ينتج بواسطة ميكروسوم الكبد من AFB₁ بإضافة جزيء ماء إلى الرابطة المزدوجة فى 2, 3-vinylether وذلك بإضافة مجموعة هيدروكسيل عند الموضع 2 ومن المحتمل أن AFB_{2a} يلعب دوراً هاماً فى التأثير السام للأفلاتوكسين بواسطة الارتباط مع وتنشيط الـ

key enzymes في الميتابولزم الوسطى مؤدياً الى تحلل أنسجة خلايا الكبد.

ج - AFP1

ينتج بإزالة مجموعة ميثايل من على الأكسجين في AFB_1 (O-demethylation of AFB_1) ويكون ناتج الإفراز الرئيسي في بول الحيوانات التي في غذائها AFB_1 ولقد اكتشف في صورة glucoronide and sulfate conjugate، ويتكون *in vitro* بواسطة ميكروسومات الإنسان. ويعتبر AFP_1 غير سام لأجنة الدجاج وغير مسبب للطفرات non mutagenic.

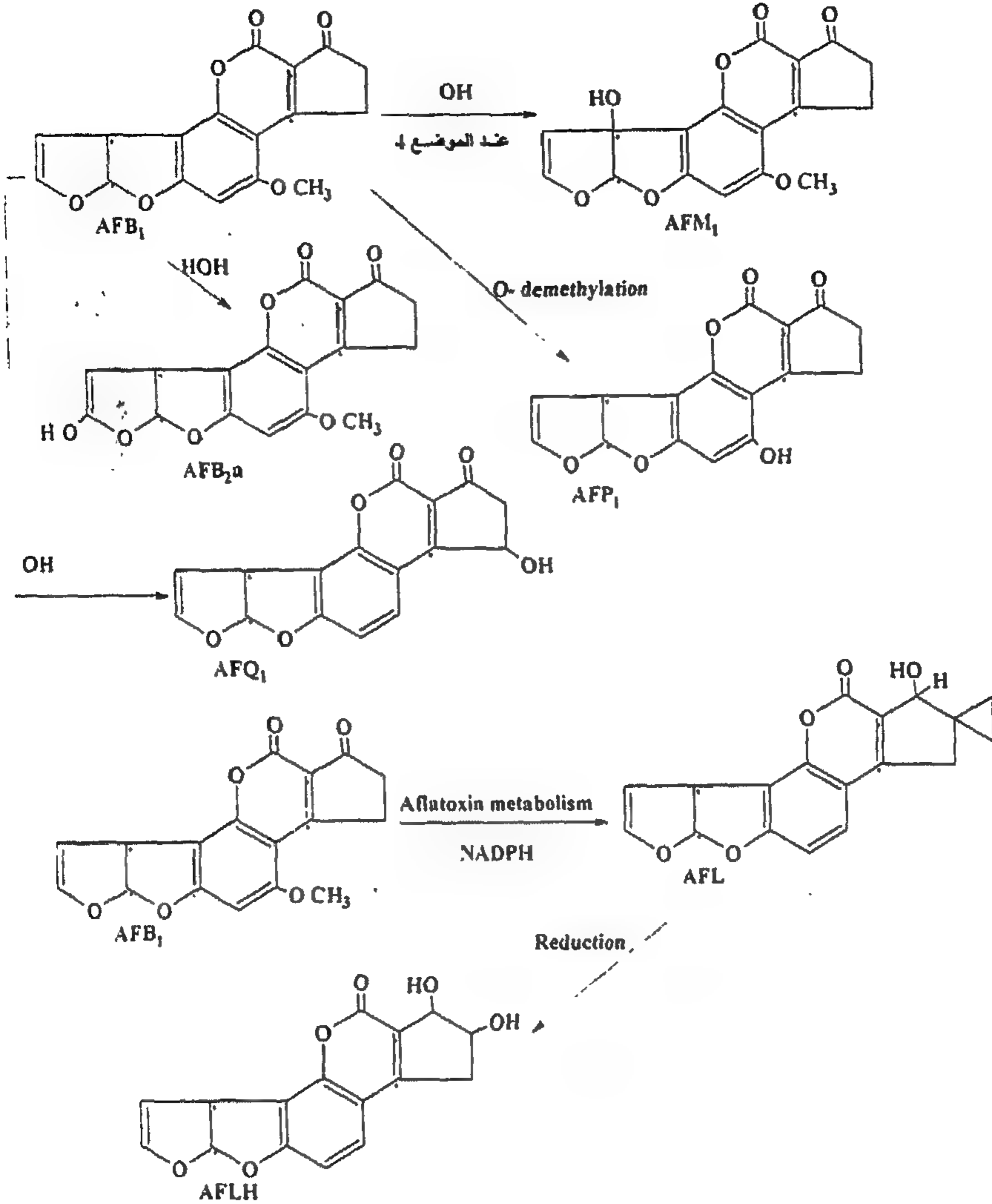
د - AFQ1

يتكون من AFB_1 بإضافة مجموعة هيدروكسيل على الحلقة على كربون β لمجموعة الكربونيل في حلقة cyclopentanone. AFQ_1 يمثل 1/3 الى 1/2 الناتج من AFB_1 بواسطة ميكروسومات الإنسان والقرد، وهذا الميتابوليت غير سام ولكن قد يكون mutagenic بنسبة 1-2%. اختزال مجموعة الكربونيل في الـ cyclopentanone في AFB_1 الى مجموعة هيدروكسيل بواسطة NADPH في وجود cytoplasmic enzymes ينتج AFL الذي تكون سميته 1/18 من سمية AFB_1 في البط ذو عمر يوم واحد وذلك في اختبار duct hyperplasia.

هـ - AFLH

يتكون من AFB_1 مستعملاً إنزيم ذائب وميكروسومات من كبد الإنسان وهذا المركب هو مشتق dihydroxyl of AFB_1 بالاستبدال عند carbon and cyclopentanone carbonyl β -function ولم يكن ساماً لأجنة الدجاج.

ويمكن توضيح الأشكال التركيبية لهذه المشتقات كالآتي :



Aflatoxins Metabolism

بعض الأمثلة للسمية الحادة للأفلاتوكسين :

١- وجد تسمم 26 شخصاً في تايوان عام 1967 نتيجة التغذية على أرز مصاب بفطريات التعفن moldy rice لمدة تصل 3 أسابيع

ولقد ظهر من التحليل أن العينات تحتوى حتى 200 ppb من AFB₁.

٢- ظهر التهاب كبدى حاد فى كينيا عام 1982 ومات 12 من كل حاله، وتبين أن استهلاك الحبوب المخزونة هى السبب فى ذلك وتم اكتشاف aflatoxin فى عينات من الكبد بتركيزات 39 and 89 ppb ووجد تحلل فى أنسجة الكبد.

٣- كانت حالات AFB₁ فى أوغندا عام 1980 مصحوبة بموت شاب عمره 15 عاماً مع مرض كل من أخته وأخيه الأصغر نتيجة التغذية على غذاء يحتوى 1.7 ppm من أفلاتوكسين.

٤- فى تشيكوسلوفاكيا (1972) ماتت حالات كثيرة من الأطفال، وتم اكتشاف AFB₁ فى عينات من الكبد.

٥- فى ألمانيا (1972) مات رجل عمره 45 عام نتيجة أكل كميات من المكسرات nuts التى كانت مصابه بالعفن ووجدت AFB₁ فى عينات من الكبد.

الجدول التالى يوضح مقارنه بين تركيز AFB₁ فى تشريح اجزاء من الإنسان والقرد انسممة بالـ AFB₁

Specimen	AFB ₁ Conc. (ug/kg specimen or ml. fluid Human Human Monkey (AFB ₁ mg / kg)
Brain	1 – 4 30 (40.5)
Liver	93 163(40.5)
Kidney	1 – 4 87(40.5)
Bile	8 163(40.5)
Stool	123
Stomach content	127
Intestinal content	81

تتبع حالات الأفلاتوكسين فى الأنسجة مع حالات الكنترول يعتقد أنها تعكس التغذية المزمنة على مستوى منخفض من السموم الفطرية.

التسمم الأقل من الحاد من الأفلاتوكسين :

Aflatoxin and sub – acute poisoning:

ظهرت مثل هذه الحالات نتيجة التغذية على كميات كبيرة من الأفلاتوكسين لفترة طويلة :

١ – احتمالات مرتبطة بالتهاب الكبد الهندي :

في أكتوبر 1974 كان موسم ممطراً غير عادياً أدى الى عفن ضار لمحاصيل الذرة القائمة واضطر الناس في المناطق الريفية للتغذية على تلك الحبوب الملوثة نتيجة عدم وجود مواد غذائية بديله وبعد عدة أسابيع من استهلاك الذرة العفن أصبح كثير من الناس مريضاً بالكبد ومات 106 شخصاً من 397 مريضاً.

٢ – احتمالات مرتبطة بالتليف الكبدى للأطفال الهندية :

Possible association with Indian childhood Cirrhosis:

تليف الكبد من الأمراض الشائعة المسببة للموت في المستشفيات بين الأطفال تحت عمر 5 سنوات ويعانون من غيبوبة كبدية . وجد أن الأطفال تعاني من مرض kwashiorkor (وهو مرض يصيب الأطفال في جنوب أفريقيا وأماكن أخرى ويرجع في العادة الى النقص الغذائى وأيضا الى كمية الأفلاتوكسين الموجودة في الغذاء) وكان الأطفال تناولوا دقيق الفول السودانى لعدة أسابيع وتم اكتشاف أن دقيق الفول السودانى يحتوى 300 ppb أفلاتوكسين وظهرت أعراضاً ضارة بالكبد الى أن وصلت الى تليف الكبد.

أفلاتوكسين وسرطان الكبد : Aflatoxin and Liver Cancer

الأضرار الناتجة من التعرض للسموم الفطرية mycotoxins قوية جداً وموثقة. دليل ارتباط أفلاتوكسين مع سبب سرطان الكبد كان قوياً

فى تداخل حلقة الطعام الملوث، وتم إثبات ارتباط استهلاك افلاتوكسين مع سرطان الكبد فى كثير من دول آسيا وأوربا. عموما الدراسات الوبائية المرتبطة بتناول افلاتوكسين فى الغذاء مع أمراض الكبد فى الإنسان توضح أن افلاتوكسين ليس من الضروري أن تكون السبب الوحيد.

العلاقة بين الكيماويات والأفلاتوكسين :

الوجبات التى تحتوى على كميات ملحوظة من افلاتوكسين قد تحتوى سموم فطرية mycotoxins أخرى مثل :

Sterigmatocystin, ochratoxin, penicillic acid, etc ...

- بعض المبيدات الحشرية من مجموعة الكلورين العضوية مثل

DDT , Lindane

- nitrosamines وبعض السموم النباتية مثل pyrrolizidine alkaloid وغيرها.

وجد أن التأثير المنشط synergistic effect للمركب dimethyl nitrosamine على أورام الكبد يتم تحفيزه بواسطة Sterigmatocystin (ناتج فطر *Aspergillus versicolor*) وهو أقل 10 مرات كمسبب سرطاني عن AFB₁. علاوة على ذلك فإن التأثير المنشط للمركب dimethyl nitrosamine على أورام الكبد يتم تحفيزه بواسطة AFB₁ المسبب القوي لسرطان الكبد. ومن ناحية أخرى فإن تناول افلاتوكسين والكحول فى نفس الوقت يمكن أن تعمل بالتنشيط synergistically فى ظهور سرطان الكبد فى الإنسان.

العلاقة بين الفيروس وأفلاتوكسين :

أثبتت الدراسات أن كل من فيروس التهاب الكبد (B) hepatitis B virus (HBV) والأفلاتوكسين يعتبران جواهر هامة فى إنتاج الـ hepatocellular carcinoma، وكثير من الفحوصات أفرت أن هذين العاملين عبارة عن co – carcinogens. اقترح أن مخاطر hepatoma ليست أكبر فى حاملي HBV المزمن من

موزمبيق عنه من الـ USA، ولكن الاختلاف بين معدلات الـ hepatoma يرجع أساسا معدل حاملي HBV في السكان. وقد تعمل أفلاتوكسين كجوهـر ضد المناعة مسبباً زيادة في حاملي HBV.

العلاقة بين المتطفلات وأفلاتوكسين :

الإصابة بالطفيليات قد تسبب الإصابة بالسرطان . وجد أن الجزء الشمالي الشرقي من تايلاند به معدل كبير من موت البالغين بواسطة الإصابة بسرطان الكبد وهي منطقة أكثر تعرضاً للأفلاتوكسين، وتم تسجيل التداخل بين طفيل الملاريا في القوارض وأفلاتوكسين مع أورام خلايا الكبد، وقد ترجع الميكانيكية التي بها الإصابة بالملاريا تزيد أو تقلل من تحفيز الأفلاتوكسين لأورام الكبد إلى المناعة وتنشيط تكوين الجسم المضاد malarial parasite antigen.

العلاقة بين الأفلاتوكسين وأنواع أخرى من السرطان:

وجد أن الغبار الملوث بالأفلاتوكسين قد يكون العامل المسبب لسرطان الأنف nasal cancer وليس سرطان الكبد. ومن ناحية أخرى، فإن مهندسا كيماويا في تشيكوسلوفاكيا مات من الإصابة بسرطان الرئة lung cancer حيث كان يعمل على طرق تعقيم وجبات الفول السوداني المصابة بالفطر *A. flavus*. قرر بعض البيوكيميائيون الانجليز أنه ظهرت حالات سرطان في القولون colon cancer بعد التعرض للـ purified aflatoxins.

متبقيات أفلاتوكسين في أنسجة الحيوانات:

أكبر إثبات لتواجد متبقيات السموم الفطرية في الأنسجة الحيوانية الصالحة للأكل هو وجود aflatoxin M في لبن الأبقار، ووجود ochratoxin في كلى الخنازير.

على وجه العموم فإن التعرض لكميات كبيرة من أفلاتوكسين وبعض الـ mycotoxins الأخرى يحدث فقط في المناطق ذو المناخ الاستوائي والتي بها الزراعة لا تتبع الطرق الحديثة. وعند تداول العاملون للحبوب المصابة بالعفن فقد يتعرضوا للـ airborne mycotoxins، ونفس الظروف توجد في مصانع تجهيز

الأغذية في حالة الحصول على الزيوت النباتية من البذور والمكسرات خاصة الفول السوداني وبذور الكتان. وخلال العمل فإن كميات كبيرة من الغبار تعلو في مناطق العمل أثناء نقل النفايات وتعبئة المتبقيات، وتم تقدير مدى التعرض من العمل لمدة أسبوع (45 ساعة) لـ 0.039-2.5 ug aflatoxin وقد وجد أن 11 من 55 عاملاً تعرضوا لأنواع مختلفة من السرطان:

4 cases of bronchial carcinomas, 1 carcinoma of bladder, 1 liver, 1 gastrointestinal tract, 1 maxillary sinus, 1 prostate, 1 plastic carcinoma, 1 pleura mesothelioma

السموم الفطرية في سلسلة الطعام :

Mycotoxins in the food chain:

السموم الفطرية في سلسلة الطعام وعلاقتها بصحة الإنسان تشكل أهمية كبيرة، فقد تم تقدير أن 25% من محاصيل العالم تتأثر بالعفن أو النمو الفطري، والإصابات الفطرية للمحاصيل تسبب نتائج اقتصادية خطيرة، وقد تلوّث السلع والبضائع بالميتابوليت السامة الناتجة والمعروفة بالسموم الفطرية mycotoxins. يتعرض الإنسان للسموم الفطرية نتيجة استهلاك الطعام الملوث بهذه السموم، وكذلك انتقال السموم الفطرية ونواتجها الثانوية (ميتابوليت) إلى المنتجات الحيوانية مثل اللبن، اللحم، البيض، والتعرض للهواء والغبار المحتوي هذه السموم، وقد يتلوّث غذاء الإنسان عند مراحل مختلفة في السلسلة الغذائية. التلوّث بالسموم الفطرية قد يؤدي إلى خفض اقتصادي معنوي في الدواب المختلفة أو في إنتاج اللحوم ومنتجاتها، ووجوده في الطعام يؤثر بطريق غير مباشر وبشدة على صحة الإنسان. يتعرض عدد كبير من السلع للتلوّث بالسموم الفطرية قبل وبعد الحصاد مما يسبب أمراضاً مصاحبة والتي تصيب الإنسان، وبعضها أمراضاً مزمنة وأخرى تأثيرها حاد في الحال.

جدول (2) الأمراض التي تصيب الإنسان بسبب التلوث بالسموم الفطرية

Fungus الفطر	Mycotoxin Source مصدر السموم الفطرية	Disease المرض
1- <i>Fusarium spp</i>	(1) القمح ، الشعير ، الشوفان ، الأرز	1-Akakabio – byo
2- <i>F. spp</i>	(2) الخبز السام Cereal, grains	2-Alimentary toxic aleukia
3- <i>Penicillium spp</i>	(3) الحبوب Cereal grains	3-Balkan nephropathy
4- <i>Aspergillus spp, P.spp</i>	(4) الأرز	4-Cardiac beriberi
5- <i>Sclerotinia</i>	(5) الكرفس (العفن القرنفلي)	5-Celery harvester's disease
6- <i>Claviceps purpurea</i>	(6) Cereal grains, Rye	6-Ergotism
7- <i>A. flavus, A. parasiticus</i>	(7) Cereal grains , peanuts	7-Heptocarcinoma
8- <i>A. flavus, A. parasiticus</i>	(8) Cereal grains	8-Kwashiorkor
9- <i>F. verticillioids , F. proliferatum</i>	(9) الذرة Maize	9-Neural tube defects
10- <i>F. verticillioids , F. proliferatum</i>	(10) Corn	10-Oesophageal tumors
11- <i>Phoma sorghia</i>	(11) Millet	11-Onyala
12- <i>Aspergillus spp</i>	(12) Cereal grains (grain dust)	12-Reye's syndrome
13- <i>Stachybotrys atra</i>	(13) Cereal grains (grain dust)	13- Stachybotryotoxiosis

من المعروف أن إلـ hydroxylated metabolite لأفلاتوكسين B1 هو أفلاتوكسين M1 والذي يفرز في اللبن من 1-6% من الغذاء المستهلك، كما تم اكتشاف ochratoxin A في الدم، الكلى، الكبد وأنسجة العضلات من الخنازير في دول أوربية مختلفة. وجد

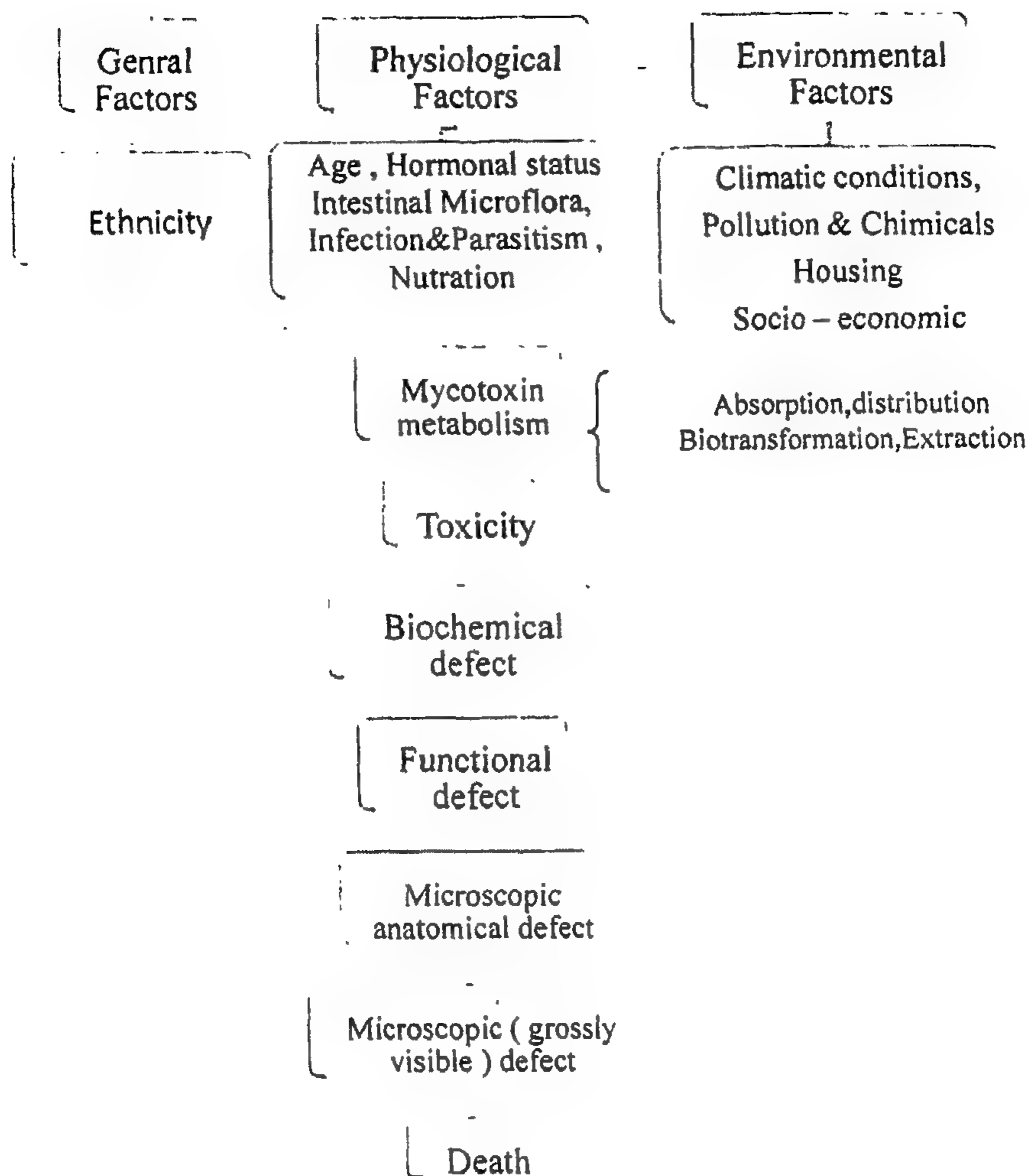
(CPA) cyclopiazonic acid هو أحد الملوثات بجانب أفلاتوكسين في اللحوم واللبن والبيض. يوجد كثير من العوامل المتداخلة في المسببات المرضية للمycotoxiosis مبينة كالآتي:

١ . العوامل العامة : مثل العوامل العرقية والوراثية الممتدة.

- ٢ . العوامل الفسيولوجية وهي كالآتي :
- العمر ، الحالة الهرمونية ، الفلورا الدقيقة المعوية ، التطفل (العلاقة بين الطفيل والعائل) ، التغذية.
 - ميتابولزم السم الفطري.
 - السمية الناتجة.
 - الخلل البيوكيميائي .
 - الخلل الوظيفي.
 - الخلل التشريحي ميكروسكوبيا.
 - الخلل الميكروسكوبي (بالعين المجردة).
 - الموت.

- ٣ . العوامل البيئية :
- ظروف المناخ ، التلوث ، تداول المواد الكيميائية ، المجتمع الإقتصادي.
 - الامتصاص ، التوزيع ، التحولات الحيوية والاستخلاص.

ويمكن تمثيل ذلك في الشكل التالي :



شكل (3) العوامل المتداخلة في المسببات المرضية للمycotoxycosis

عموماً فإن تلوث السلسلة الغذائية بالسموم الفطرية لها تأثير اقتصادي كبير، وطبيعة كثير من ال mycotoxycoses تجعلها من الصعب تقدير الحدوث والتكاليف حيث أنه بالإضافة الى فقدان المحصول ونقص إنتاجية الحيوانات فإن التكاليف تنشأ من الجهود المبذولة بواسطة المنتجون والموزعون لمواجهة الخسارة الأولية مثل تكاليف

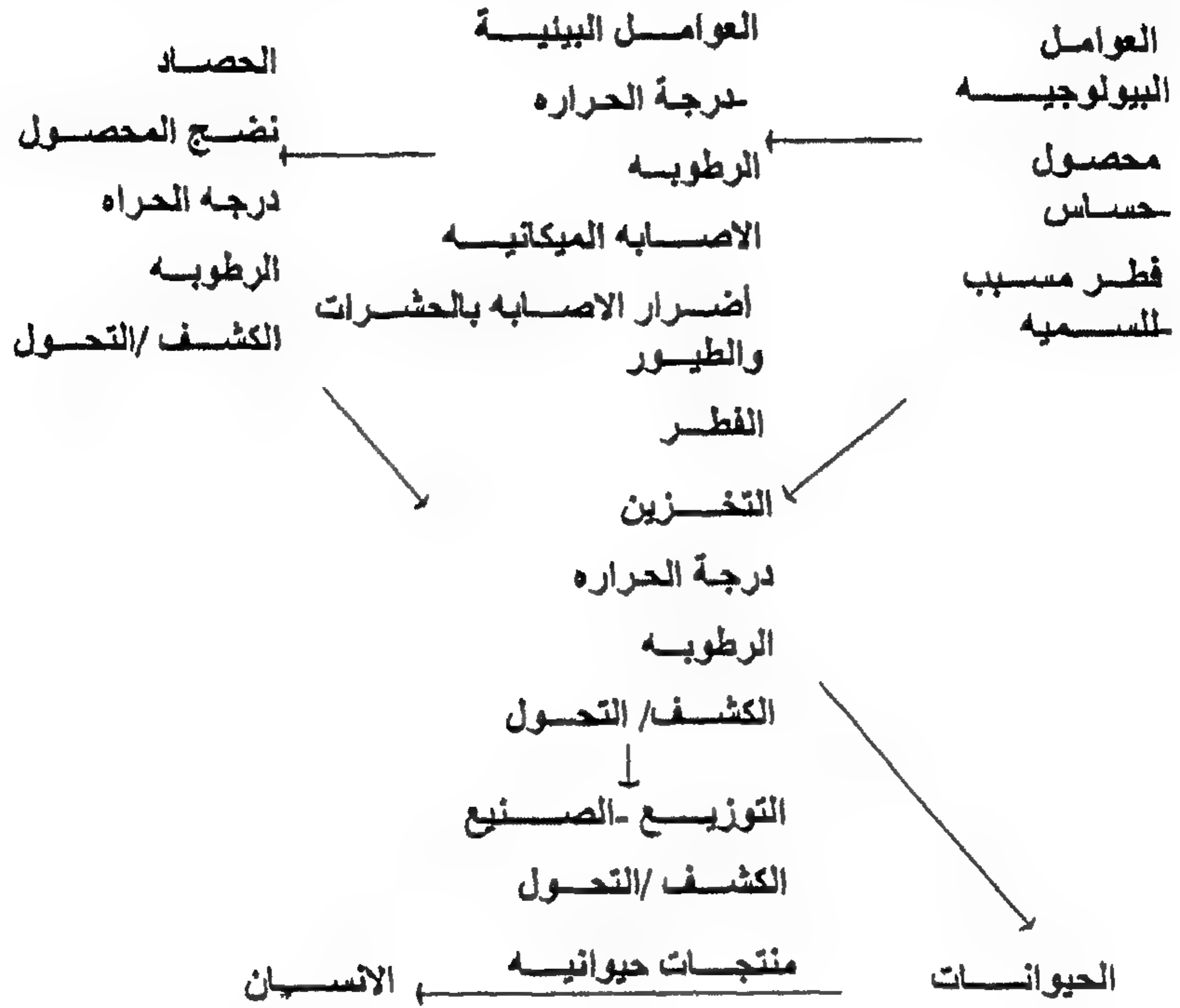
التكنولوجيا المحسنة للإنتاج والتخزين والنقل، و تكاليف اختبارات التحليل خصوصاً للاكتشاف أو التعرف تصبح أكثر جدية، و تكاليف تحسين خطط أخذ العينات. كما يوضع فى الاعتبار كذلك تكاليف التداول والتوزيع، زيادة تكاليف المعاملات والتصنيع، فقدان ثقة المستهلك فى أمان المنتجات الغذائية. السموم الفطرية فى الجرعات العالية قد تكون الجوهر الأولى المسبب لمشاكل صحية حادة فى قطاع اللبن وتكون عامل مشترك للمشاكل المزمنة مثل حدوث أمراض بدرجة عالية، ونقص القدرة الإنتاجية، وإنتاج لبن أقل من المثالى. عموماً تحدث السموم الفطرية تأثيرها من خلال :

- ١- تقليل الكمية المستهلكة أو رفض الطعام .
- ٢- تقليل امتصاص المواد الغذائية وضعف التمثيل الغذائى .
- ٣- تغيير نظام الـ endocrine and exocrine
- ٤- وقف المناعة .
- ٥- تغيير النوع الميكروبي .

وتتداخل السموم الفطرية مع عوامل أخرى تجعل من الصعب تقدير المستويات الآمنة لكل السموم الفطرية المنفردة. وتتأثر فاعلية السموم الفطرية بعوامل مثل نوع الحيوان، الجنس (ذكر أو أنثى)، فترة التعرض، الإجهاد البيئى والإنتاج، حيث أن الحيوانات تحت الإجهاد البيئى وضغط الإنتاج قد تظهر أعراضاً ظاهرة بدرجة أكبر .

وبطريقة أخرى يمكن تلخيص العوامل المؤثرة على تواجد السموم الفطرية فى سلسلة الطعام كالتالى:

ويمكن تلخيص العوامل المؤثرة على تواجد السموم الفطرية في سلسلة الطعام كالتالى



السموم الفطرية في البيئات الداخلية :

Mycotoxin in the Indoor Environments

تعتبر المباني مصدراً آخر للسموم الفطرية، والناس الذين يعيشون في مناطق وبها عفن فطري فقد تزيد فرصة التأثيرات الصحية الخطيرة. يمكن تقسيم العفن الفطري النامي في المباني الى ثلاثة مجاميع هي مستعمرات أولية، ثانوية، وثلاثية. كل مجموعة تصنف بواسطة القدرة على النمو عند نشاط مائي معين، ومن الصعب التعرف على إنتاج السموم الفطرية بواسطة العفن الداخلى نتيجة كثير من العوامل المتغيرة بأن تكون محجوبة كمشتقات أو ليست ثابتة بدرجة كافية، وفي الحقيقة من المحتمل تنتج ميتابوليت مختلفة على مواد المبنى .

بعض السموم الفطرية في البيئة الداخلية تنتج بواسطة كل من:

Alternaria, *Aspergillus* (multiple forms), *Penicillium*, and *Stachybotrys*

Stachybotrys chartarum تحتوي عدداً كبيراً من السموم الفطرية عن مسببات العفن الأخرى النامية في بيئات داخلية وتكون مصحوبة بالحساسية والالتهابات التنفسية. الإصابة أو العدوى بـ *S. chartarum* في المباني المحتوية ألواح جبس على قرميد السقف شائعة جداً وأصبحت تشكل مشكلة كبيرة، وعلى ذلك يجب التحكم في الرطوبة والتهوية في المنازل السكنية والمباني الأخرى. التأثيرات الصحية السلبية للسموم الفطرية تكون دالة على تركيز وفترة التعرض، وتبين أن جراثيم الـ *Stachybotrys* تسبب نزيف في الرئة في الحيوانات عند التركيزات العالية جداً. مركز مكافحة الأمراض في كليفلاند وأوهايو في أمريكا عام 1990 وجد ارتباط بين السموم الفطرية من جراثيم الـ *Stachybotrys* مع النزيف الرئوي في الأطفال. أجريت دراسات في ولاية ميتشجان في أمريكا وجد أن تيار الهواء المعرض لـ *S. chartarum* يسبب حساسية والتهابات وسمية الخلايا في الجهاز التنفسي العلوي والسفلي . وعلى ذلك السموم الفطرية المحمولة هوائياً من المتوقع أن تسبب مخاطر للإنسان المعرض لها باستمرار.

والأعراض تعتمد على نوع الـ mycotoxins، تركيز وطول فترة التعرض، العمر والحالة الصحية والجنس للأفراد المعرضة وكذلك فإن نقص الفيتامينات، إدمان الكحولات لها تأثيرات مركبة مع السموم الفطرية. ومن هنا فإن السموم الفطرية لها تأثير قوى مزمن وحاد على الصحة من خلال تناولها مع الأكل، وتلامس الجلد والاستنشاق. هذه السموم يمكن أن تدخل مجرى الدم والجهاز الليمفاوي وتثبط تخليق البروتين مع زيادة الحساسية.

في كينيا عام 2004 مات 125 فرداً، وعولج تقريباً 200 فرداً بعد تناول أو أكل الذرة الملوثة بالأفلاتوكسين، وارتبطت معظم الوفيات مع الذرة المحلية والتي لم يتم معاملتها بمبيدات فطرية أو لم تجفف قبل التخزين وكان ذلك نتيجة نقص المواد الغذائية حيث حصد

المزارعون الذرة فى موعد مبكر عن المعتاد لمع السرقات من حقولهم وبالتالي لم يتم نضج الحبوب جيداً، وأصبحت أكثر حساسية للإصابة بالعفن.

الأمراض التى تحدث بواسطة السموم الفطرية فى الحيوانات

Mycotoxicosis in animals

كما هو معروف أن السموم الفطرية Mycotoxins قد تنتج على أحد المباني، الحبوب، المراعى أو العلف أو قد توجد فى المكونات المستعملة فى صناعة وجبات طعام الحيوانات. بعض وجبات الحيوانات خصوصاً المحتوية حبوب أو مكسرات قد تحتوى أنواع من العفن نتيجة للسموم والتى قد تنتج عدداً من السموم الفطرية التى لها خواص سمية أو علاجية مختلفة، وفى تلك الظروف فإن علامات العلاج أو الضرر فى الأمراض المنتشرة قد لا تتوافق مع وصف الانتشار أو الى الاكتشافات العملية فى الحيوانات التى أخذت جرعات من السموم المعزولة من بينات تعفن نقيه.

تقسيم السموم الفطرية طبقاً لموضع التأثير:

Classification of Mycotoxins

يتم التقسيم طبقاً لنظام العضو الرئيسى المتأثر إلى:

١- سموم كبدية : Hepatotoxins

- Sporidesmin
- Aflatoxin
- Luteoskyrin
- Cyclochlorotine
- Rubratoxins
- Sterigmatocystin

٢- سموم للجهاز البولي (الكلى) : Nephrotoxins

*Ochratoxin

*Citrinin

٣- سموم عصبية : Neurotoxins

*Penitrema *Patulin *Citireoviridin

* Misc. neurotoxins

٤- سموم خلويه (سموم القناة الهضمية) Cytotoxins
(Alimentary Tract Toxins)

*Trichothecenes, *T-2 toxin,

*Diacetoxyscripenal, * Neosolaniol,

*Nivalenol , *Diacetylivalenol

,*Deoxynivalenol (Don, Vomitoxin) ,

*H T -2 toxin, *Fusarenon X

سموم فطرية للهرمون المثير للدوره النزويه :

Estrogenic Mycotoxins

*F-2 toxin (Zearalenone)

٦- سموم فطرية أخرى Other Mycotoxins

*Ergot *Fescue *Lupinosis

الباب الخامس

ميكانيكية التأثير

البيوكيميائي للسموم

الفطرية وعلاقتها بصحة

الإنسان

**Biochemical mechanism of
mycotoxins action with
relation of human health**

الباب الخامس

ميكانيكية التأثير البيوكيميائي للسموم الفطرية وعلاقتها بصحة الإنسان

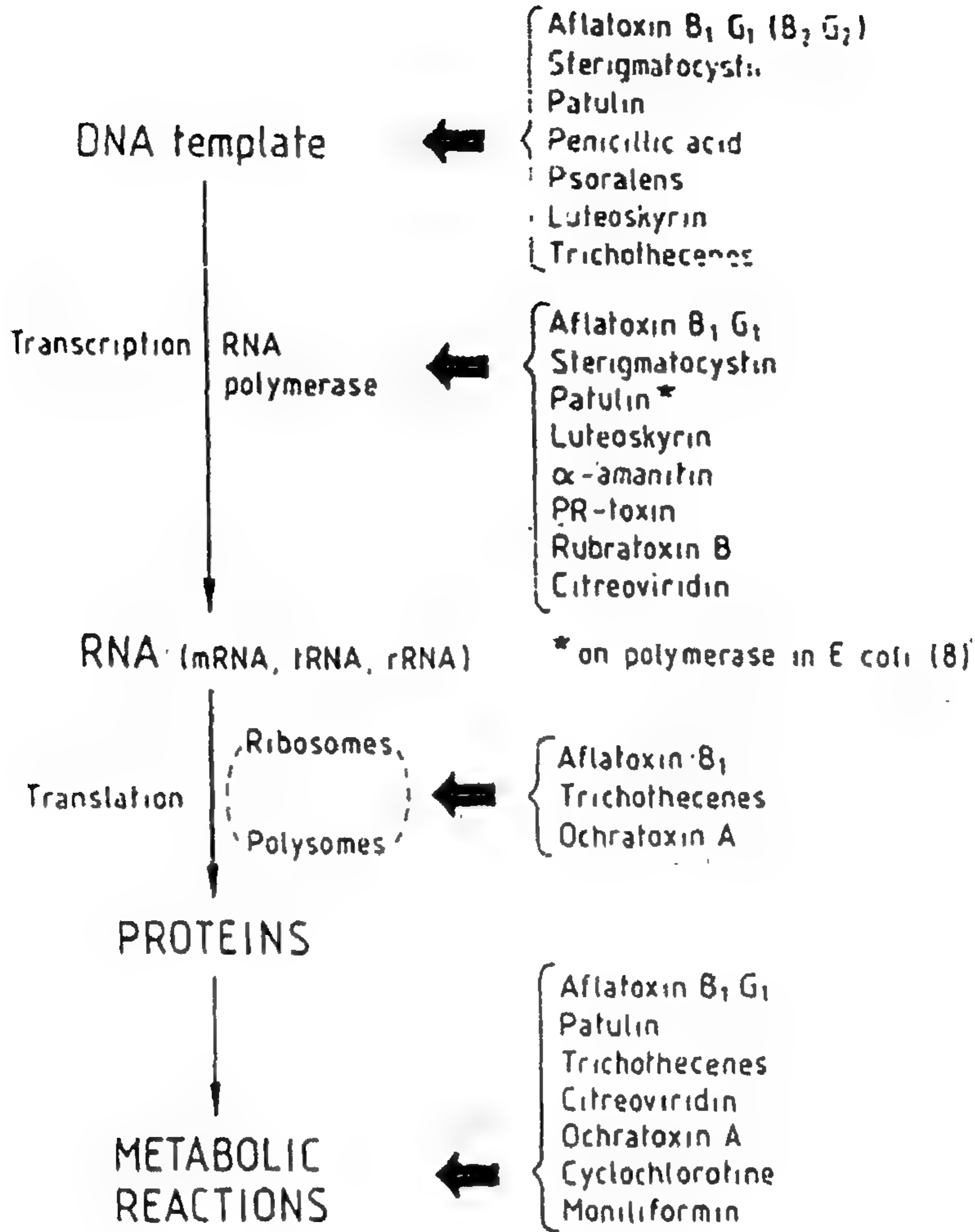
**Biochemical mechanism of mycotoxins action
with relation of human health**

تنوع الأمراض التي تصيب الإنسان والحيوان الراجعة الى السموم الفطرية (micotoxícoses) يرجع إلى تنوع التركيب الكيميائي للسموم الفطرية. التأثيرات البيولوجية للسموم الفطرية تعود الى التغير في اساس عمليات الميتابولزم. عمليات التأثير المباشر هي: ميتابولزم الكربوهيدرات، وظائف الميتوكوندريا، ميتابولزم الليبيدات والاسنرويدات والتخليق الحيوى للبروتين والأحماض النووية. عن طريق ميكانيكية تأثير السموم الفطرية على هذه العمليات فإنه يعطى احتمال تطوير طرق لمكافحة ومنع مشاكل السموم الفطرية.

1- تأثير السموم الفطرية على RNA وتخليق البروتين:

**Effects of mycotoxins on RNA and Protein
Synthesis:**

المواضع الرئيسية لتأثير السموم الفطرية على RNA وتخليق البروتين يمكن توضيحها في الشكل التالي (Kiessling, 1986):



Mycotoxins affecting major sites in RNA and protein synthesis

شكر (4) مواضع تأثير السموم الفطرية في RNA وتخليق البروتين

وعلى ذلك فإن ميكانيكية التأثير الأولية للسموم الفطرية قد تكون تعديل الهيكل التركيبي للـ DNA مما يؤدي إلى تلف عملية النسخ transcription أو تثبيط (إيقاف) عملية الـ translation في تخليق البروتين. في معظم الأحوال تتفاعل السموم الفطرية مباشرة مع

بروتين الإنزيم أو الـ coenzyme وكل هذه العمليات الأولية تؤدي إلى تأثيرات ثانوية فيما يسمى نشاط إنزيمات معدله مما يؤدي إلى تغيير في النشاط التمثيلي metabolic activation والتنظيم .

أحد التأثيرات الهامة لإعطاء الـ AFB1 لى حيوان هو خفض فى محتوى RNA وفى RNA polymerase فى نواة الكبد. AFB1 أكثر نشاطاً بثلاث مرات عن AFG1 بينما AFB2 ليس له تأثيراً على الإطلاق. مما يؤكد أن 2,3-unsaturated double bond فى الـ dihydrofuran moiety هامة جداً للنشاط.

2- تأثير السموم الفطرية على مستوى DNA:

Effect of Mycotoxins on DNA Level:

يوجد على الأقل عدد 14 من السموم الفطرية معروفة فى المعمل بأنها مسببات سرطانية carcinogens مثل :
Aflatoxins, sterigmatocystin, cyclochlorotine, griseofulvin, patulin وفى عدا cyclochlorotine فان كلها نشطة على مستوى DNA

يوجد نوعان من التداخل الذى يحدث بين الأفلاتوكسين والأحماض النووية nucleic acids.
النوع الاول من التداخل ارتباط غير تعاونى ضعيف عكسي non-covalent, weak, reversal binding
النوع الثانى من التداخل يكون تعاونياً غير عكسي irreversible covalent binding يلزم لنظام الميتابولزم فى الثدييات.

معظم الأنشطة الوراثية والسرطانية للأفلاتوكسين والمركبات القريبة منها مثل sterigmatocystin لوحظت فى صور منشط تمثيلاً.

الارتباط التعاوني في صورة رابطة مزدوجة بين C2,C3 تعني أن كل من AFG1, AFB1 أكثر نشاطاً من AFG2, AFB2

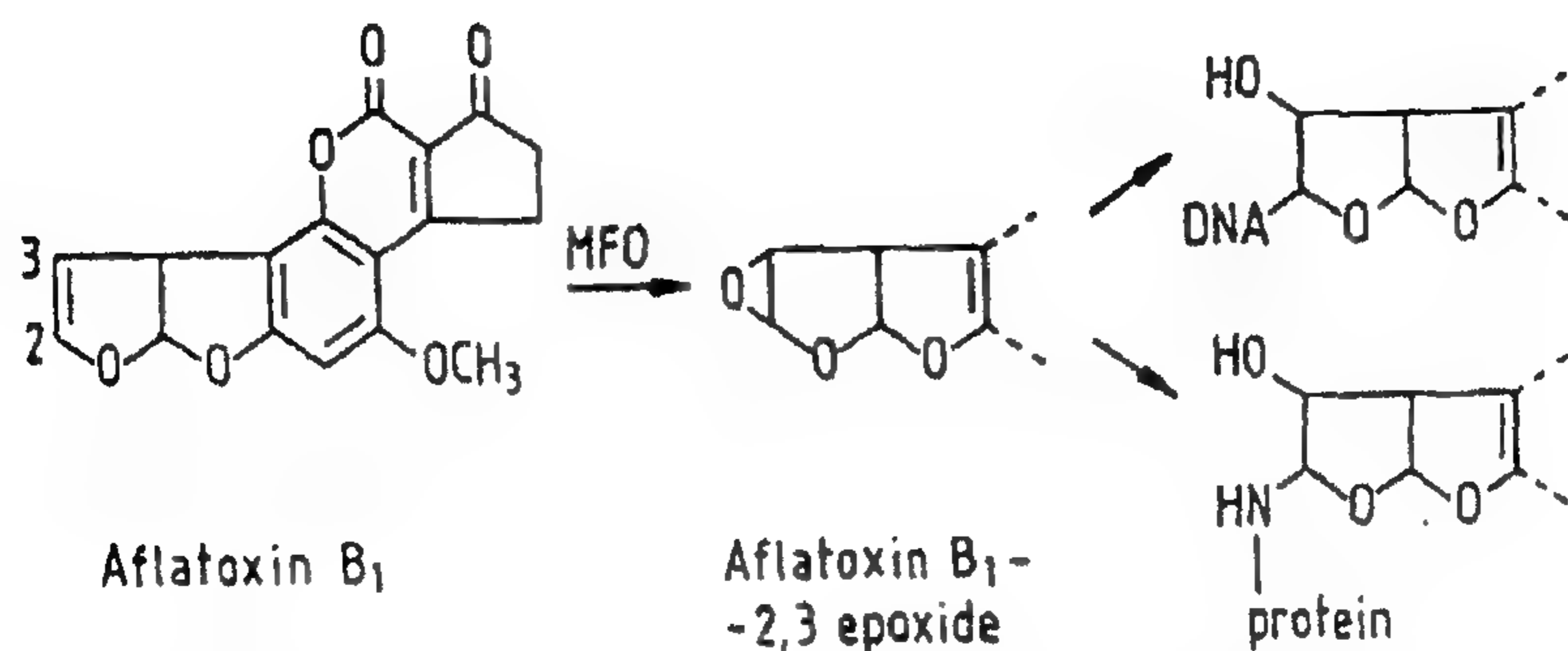


Fig. (5) Metabolic activation of aflatoxin B₁ (and G₁) by mixed function oxidase (MFO)

إنزيم MFO في الشبكة الاندوبلازمية في الكبد يساعد على تكوين 2,3- epoxide of AFB₁. الـ epoxide المتكون يسبب تكوين ناتج إضافة مع الأحماض النووية و البروتينات مما يجعلهم في صورة غير نشطة حيويًا.

توجد علاقته قوية بين القدرة على إحداث السرطان carcinogenicity وإحداث الطفرات الوراثية mutagenicity ومدى ارتباط DNA التعاوني مع الأفلاتوكسين والميتابوليت الخاص بها. يعتبر الجوانين في الـ DNA هو الهدف الرئيسي لمهاجمة الأفلاتوكسين المنشطة. تكوين الـ mutations يتم بواسطة الارتباط التعاوني إلى DNA والذي يؤدي إلى سرطان.

لقد تم إقرار أن AFB₁ يحفز تثبيط تخليق DNA في Hela cells وذلك يرجع إلى خفض إنتقال الـ thymidine إلى الخلية وليس إلى نقص نشاط هيكل DNA. على أي الأحوال فإن الخلايا العادية لا تحتاج إلى Thymidine خارجي ولكنها تخلق الـ thymidine الخاص بها من الـ uridine وأهميه هذا الانتقال للميكانيكية التي بواسطتها الأفلاتوكسين يثبط الـ nucleic acids في الخلايا العادية.

الأبحاث الحديثة أظهرت أن AFB1 المقدم لحيوانات التجارب يرتبط تعاونياً إلى ميتوكوندريا الكبد بطريقه أكثر فعالية عنه إلى nuclear DNA تركيز ناتج الاضافه المسرطن فى mitochondrial DNA تبقى غير متغيره حتى بعد 24 ساعة.

- يوجد تشابه تركيبى بين AFB1, sterigmatocystin من حيث الأبعاد والشكل الفراغى المطلق لثنائى ثانى هيدروفيوران bisdihydrofuran moiety وبالتالي من المتوقع أن يكون الـ metabolic activation عند نفس الموضع عند الرابطة المزدوجة بين C₂ – C₃ فى الـ AFB1 وعلى ذلك فإن تثبيط تخليق DNA and RNA يكون أحد الطرق لفعل الـ sterigmatocystin.

* لوحظ تداخل مباشر بين patulin and penicillic acid مع الـ cellular DNA فى نظم خلايا ثدييه وبكتيرية. كسر الشريط الفردى والمزدوج يتم تحفيزه فى Hela and mammary carcinoma DNA بواسطة هذين المادتين (DNA ورم سرطان فى الثدييات و Hela) ووجد أن جرعة أكبر رباعيه من كلا المادتين تسبب تأثيرات سرطانية.

* T-2 toxin لم يلاحظ لها تأثير على hepatic DNA ولكنها تحفز كسر شريط فردى فى DNA الخلايا الليمفاوية *in vivo* and *in vitro*. فقدان التأثير على liver DNA قد يرجع إلى وجود إنزيم glutathione transferase فى الـ hepatic cytosol القادر على تحفيز (مساعدة) الارتباط مع trichothecene نظراً لأن الـ epoxides مثل T-2 toxin يتفاعل مع مجاميع SH.

على أى الأحوال بالاضافه T-2 toxin فإن patulin and penicillic acid تسبب كسر single – strand فى الـ DNA.

Effect on Translation level .3

التأثيرات المثبطة على كلا من:

transcriptional and translational level قد تؤدي إلى تثبيط تخليق البروتين وتغيير تالي في الـ metabolic activity والتنظيم. trichothecenes يثبط تخليق البروتين، تخليق DNA في خلايا الـ eukaryotic وعلى الرغم أن تخليق DNA يتم تثبيط بنفس الدرجة مثل تخليق البروتين فإن الميكانيكية الأولية للـ trichothecenes هي تحطيم تخليق البروتين.

الرسائل الوائيه المشفرة Genetic messages coded بواسطة RNA يتم ترجمتها بواسطة الريبوسومات ribosomes إلى تركيب البروتين في ثلاث خطوات هي :

(a) Initiation (b) Elongation (c) Termination

أ- البداية : Initiation

وجد أن مركبات trichothecenes تثبط تكوين معقد 80S ribosomes أو تثبيط وظيفة الـ intact ribosome. عملية تحطيم الـ polyribosomes هي أحد طرق التأثير الأخرى لهذه المثبطات في البداية.

ب- الاستطالة Elongation

يتداخل الـ trichothecenes مع مركز إنزيم peptidyl transferase على 60S ribosome مانعاً تكوين الـ peptide bond موقفاً تكرر تكوين هذه الرابطة مما يؤثر على ارتباط amino-acyl-t-RNA مع الـ intact ribosome المساعدة بواسطة هذا الإنزيم والتي تتكرر حتى يتم تكوين سلسلة الببتيد peptide chain. وهذا التثبيط يوقف عملية الـ elongation.

ج- النهاية Termination:

تتداخل الـ trichothecene أيضاً مع مركز إنزيم peptidyl transferase على 60S ribosomal subunit. تمنع أيضاً انفراد الـ polypeptide بواسطة إيقاف عملية التحلل المائي للـ peptidyl – t RNA

أكثر مشتقات الـ trichothecenes سمية :
verrucarin, diacetoxyscirpenol, T-2 toxin, nivalenol.

وهذه المشتقات تعمل كمثبطات لخطوة البداية من translation بواسطة الارتباط مع الـ 60S ribosome unit وكذلك بواسطة تثبيط نشاط إنزيم الـ peptidyl transferase.

ومن ناحية أخرى فإن كل من deoxynivalenol, verrucarol, trichothecene تؤثر على خطوه elongation-termination. تثبيط الـ elongation أو initiation يعتمد على تركيز الـ trichothecenes فمثلاً وجد أن diacetoxyscirpenol يثبط الـ initiation بواسطة الجرعة التي تسبب 70% تثبيطاً لتخليق البروتين ولكن تثبيط initiation and elongation يتم عند جرعات أعلى.

سمية الـ trichothecene بصرف النظر عن وجود 12,3- epoxy ring , C9-10 double bond تعتمد على وجه الخصوص على :

- عدد ومواقع مجاميع الهيدروكسيل.
- نوع الأحماض المكونة للإستر esterifying acids.

وجد أن الـ Ochratoxin A قد تؤثر كنظير للـ phenylalanine فيما يتعلق بالـ aminoacylation of t-RNA في البكتيريا. وهذا التفاعل يتم مساعدته بواسطة phenylalanyl-tRNA synthetase وجوهرية لكل الكائنات الحية. ووجد أن قابلية هذا الإنزيم لـ Ochratoxin A حوالي $\frac{1}{300}$ منه للـ phenylalanine. وتنتج سمية Ochratoxin A في الخلايا الحيوانية السليمة بسبب أن أنزيم mammalian synthetase له قابلية عالية لهذا المركب وقابلية منخفضة للفينيل ألانين وكذلك بسبب أن Ochratoxin A والميتابوليت السامة منه تتراكم داخل الخلية.

4-التأثير على ميتابولزم الكربوهيدرات :

Effect of carbohydrate metabolism :

تأثير السموم الفطرية على ميتابولزم الكربوهيدرات تتضح كاختزال الجليكوجين الكبدى وزيادة مستويات جلوكوز الدم. والسموم الفطرية التى تسبب تلك التأثيرات هى:

Aflatoxins, ochratoxin A, rubratoxin B,
cyclochlorotine, citreoviridine.

وجد أن aflatoxin B1, cyclochlorotine, citreoviridine تقلل مستوى الجليكوجين الكبدى بواسطة تثبيط إنزيمات التخليق الحيوى مثل glycogen synthetase وبواسطة زيادة نشاط الإنزيمات التى تؤدي الى تمثيل الجليكوجين metabolizing glycogen precursors وهو :

NADP-reducing enzyme glucose-6-phosphate
dehydrogenase

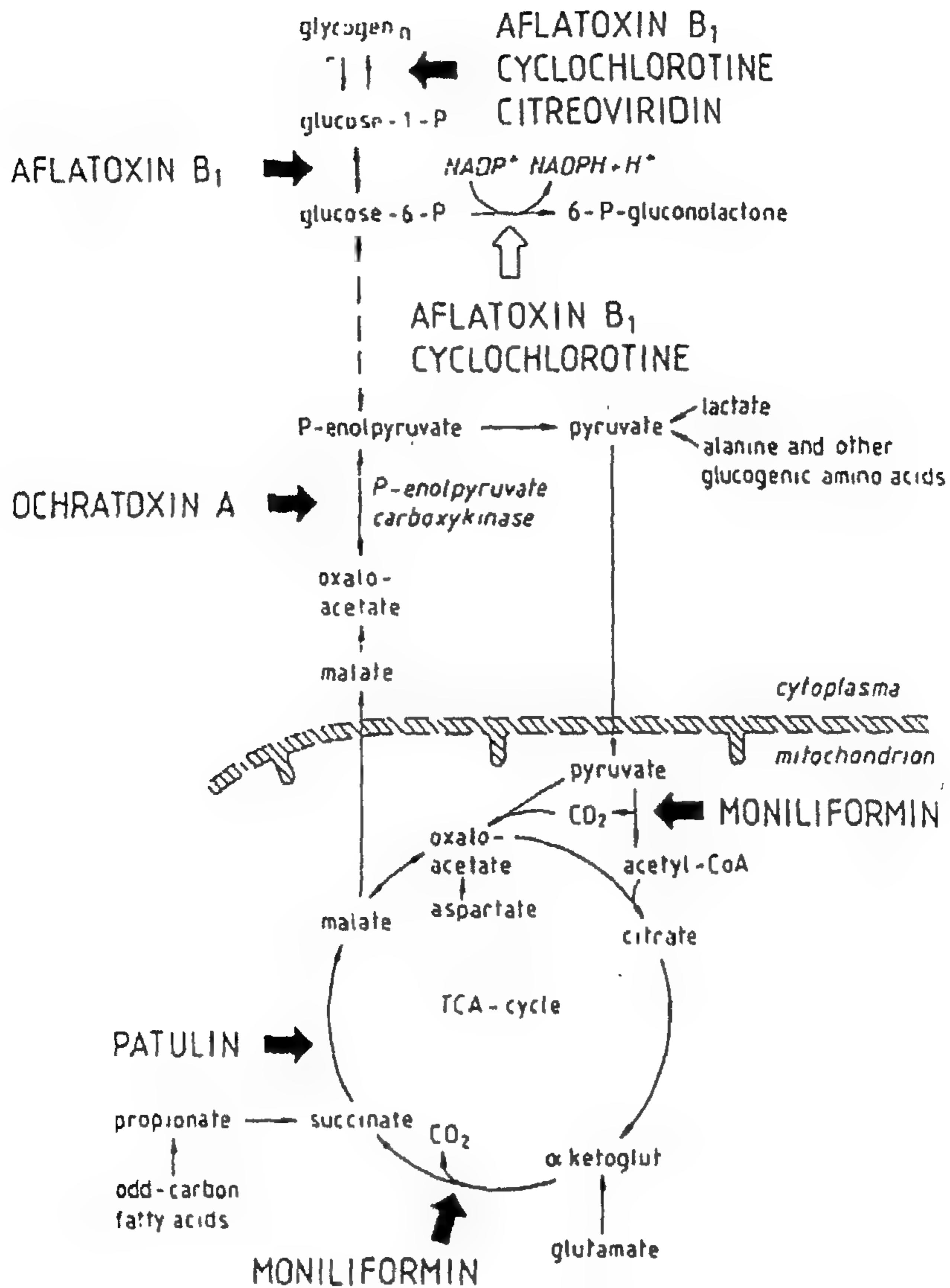
وفى دراسات أخرى كان يحقن 2.7mg AFB1 لكتاكت ذو عمر يوم واحد لوحظ أنه بجانب التأثيرات السابق ذكرها وجد أيضاً أنها تقلل نشاط كل من :

- 1) Glycogen phosphorylase.
- 2) Phosphoglucomutase,
- 3) Glucose – 6 – phosphatase.

ووجد أن كل من الأنزيمين (1)، (2) تساعد على تحطيم الجليكوجين،
أما الإنزيم الثالث يساعد على إزالة المركب :
glucose-6-phosphate.

Ochratoxin A هو السم الفطري الآخر الذى يقلل جليكوجين الكبد
كما وجد أن هذا المركب يثبط تنافسياً ارتباط cAMP مع الـ
bovine receptor protein ولكن فقط عند التركيزات العالية جداً.

الشكل التالي شكل (6) يوضح مواضع تداخل السموم الفطرية مع
Carbohydrate metabolism :



Aflatoxin B₁ and Cyclochlorotine:
 يثبط تخليق الجليكوجين بواسطة خفض أنشطة كل من انزيمي glycogen sythetase and transglycosylase وهى الإنزيمات التى تساعد عملية استطالة وإعادة تنظيم جزئ الجليكوجين.

- مركب citreoviridine يثبط انزيم glycogen synthetase.
- AFB1 يقلل نشاط انزيم phosphoglucomutase الذى
يحول طردياً عكسياً glucose-6-phosphate إلى
glucose-1-phosphate.

- AFB1 ، cyclochlorotine تقلل الجليكوجين الكبدى بواسطة
إسراع أكسدة glucose-6-phosphate.

- Ochratoxin A يثبط تخليق انزيم :
phosphoenolpyruvate carboxykinase وهو الإنزيم الذى
يحول الـ oxaloacetate إلى phosphoenol pyruvate.

- Moniliformin يثبط إزالة الكربوكسيل المؤكسدة لكل من :
 α -keto acid pyruvate and α -Ketoglutarate
وفى دراسات أخرى وجد أن تأثير Ochratoxin A يحدث
بواسطة نقص فى تركيز mRNA المشفر لأنزيم
phosphoenolpyruvate carboxykinase فى الكلية بالإضافة
إلى تثبيط الأنزيم نفسه. وبذلك يكون هذا المركب سام للكلية
nephrotoxin .

* بعض الـ trichothecenes تتفاعل مع البروتينات حيث وجد أن
كل من fusarenon-x, neosolaniol, T-2 toxin
تثبط الإنزيمات المحتوية مجموعته ثيول thiol مثل
lactate dehydrogenase وذلك بواسطة التفاعل مع مجاميع
السلفاهيدريل.

هـ-التأثير على ميثابولزم الليبيدات :

Effect on Lipid Metabolism:

يتأثر ميثابولزم الدهون بواسطة عدد كبير من السموم الفطرية مثل:
Aflatoxins, ochratoxin A, citrinin, luteoskyrin,
trichothecenes, penitrem A, rubratoxin B.

كل هذه المركبات تسبب تراكم دهون الكبد. أظهرت الدراسات أن أفلاتوكسين يسبب هذا التأثير بواسطة زيادة مستوى NADPH الخلوي اللازم لتخليق الأحماض الدهنية في الكبد كما وجد أن كل من triglyceride and aflatoxin and luteoskyrin يثبط الـ phospholipids transport مسبباً كبد دهني fatty liver.

٦- التأثير على الأكسدة الفوسفورية وبعض وظائف الميتوكوندريا:

Effects on oxidative phosphorylation and other mitochondrial function :

* AFB1 تؤثر على نقل الإلكترون في الميتوكوندريا وموضع التأثير يكون بين cytochrome b and c. وفي دراسات أظهرت أن كل من AFB1, AFM1 تعمل uncouplers of oxidative phosphorylation (فصل عمليات الأكسدة والفسفرة) كما أظهرت الدراسات أن AFB1 مثبط لنقل الإلكترون عند مستوى cytochrome oxidase.

- وجد أن كثير من السموم الفطرية تعمل في صورة
- Inhibitors of mitochondrial respiration.
- Inhibitors of various ATPases.

٧- التأثيرات الهرمونية: Hormonal Effects

Zearalenone بالإضافة إلى الميثابوليت α and β zearalenol تعتبر estrogen (هرمون للدورة النزوية) حقيقياً بأنها تشجع الدورة النزوية في الـ adult mice وهذه الظاهرة التي تم تحفيزها بواسطة Zearalenone في الحيوانات كان متناغماً مع التأثيرات الناتجة بواسطة الهرمونات الاسترويدية diethylstilbestrol or steroidal estrogen.

ويعتبر ارتباط Zearalenone مع الـ estrogen receptors يكون ارتباطاً بالتخصص فيما يتعلق بالتركيب ويسمح لمشتقات: 6'- ketone and 6'- hydroxyl للتنافس مع 17 β -estradiol عند مواضع الاستقبال receptor sites

Zearalenone يتحول بسرعة إلى α - and β - Zearalenol بواسطة إنزيمات 3 α - hydroxysteroid dehydrogenases في الكبد.

ووجد أن zearalenone يثبط تنافسياً إنزيمات 3 α , 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase اللازم لتحويل 5 α -dihydrotestosterone إلى 5 α -androstanediols في غده البروستاتا في الإنسان.

الباب السادس

مُسَبِّاتُ السُّوْمِ الْفُطْرِيَّةِ

Mycotoxigenic

الباب السادس

مسببات السموم الفطرية

Mycotoxigenic

أولا : أنواع الفيوزاريوم المسببة للسموم الفطرية:

Mycotoxigenic species of *Fusarium*:

الفيوزاريوم هو أحد الأجناس الهامة من الفطريات الممرضة للنبات بإصابات مدمره لكثير من النباتات الهامة اقتصاديا. أنواع الفيوزاريوم مسئولة عن الذبول، عفن الجذور في البقوليات، أشجار الصنوبر والقمح والذرة والتجليات. الفيوزاريوم قد يحدث الإصابة في البذور أثناء نموها ونضجها خصوصا في محاصيل الحبوب وكذلك الفاكهة والخضروات الناضجة، ويوجد وسيط كامن لانتاج الـ toxins في الطعام. وظل دور عائلة الفيوزاريوم *Fusaria* في إنتاج الـ mycotoxins غير متوقع حتى عام 1970، وثبت دور الـ *Fusaria* في إحداث مرض *alimentary toxic aleukia* (ATA) وهو أحد الأمراض الوبائية التي تصيب الإنسان بالسموم الفطرية *human mycotoxicoses epidemic* في روسيا والتي قتل مائة ألف من الناس فيما بين 1942 – 1948 .

الأبحاث منذ عام 1970 أظهرت أن أنواع الفيوزاريوم قادرة على إنتاج أنواع مذهلة من السموم الفطرية منها في المقام الأول *trichothecenes* والمعروف منها على الأقل 50 مركب ومعظمه ينتج بواسطة *Fusaria* أكثرها خطورة هو *T - 2 toxins* والمسئول عن ATA. يوجد بعض السموم الفطرية الأخرى من الفيوزاريوم عالية السمية للحيوانات ويظن أنها المسئولة عن أمراض الإنسان الحادة والمزمنة. وهناك أربعة أنواع هامة من وجهة نظر صحة الإنسان هي :

Fusarium sporotrichioides, *F. equiseti*,
F. graminearum and *F. moniliforme* .

١ - وجد أن trichothecenes من السموم الرئيسية التي تنتج بواسطة الـ *Fusaria* وهو من مجموعة sesquiterpenes له نظام epoxytrichothec - 9 - ene ring - 13 , 12 وقد ينتج trichothecenes في صورة مخلوط في ظروف بينيه نقيه ويكون من الصعب فصلهم . كانت قيم LD_{50} لـ T - 2 toxin بمعدل 4 - 8 mg / kg في الفئران والخنازير، الـ LD_{50} للمركب deoxynivalenol الأقل سمية كانت 70 mg / kg في الـ mice ، على الأحوال وجود 5 mg / kg في الغذاء يسبب قىء في الخنازير . الأساس البيوكيميائي لسمية الـ trichothecene هو تثبيط غير تنافسي لتخليق البروتين. واقترح أن المركب يهاجم بداية تخليق البروتين أو يثبط التمديد والنهائية. وكانت الأعراض التي تحدث بسرعة عبارة عن قىء، إسهال، فقدان الشهية والتهاب في المعدة . ولكن هناك أعراض تظهر أقل سرعة مثل الموت الموضعي لأنسجة الجلد ، نقص في كرات الدم البيضاء leukopenia ، عدم قدره على تنسيق الحركات العضلية الإرادية ، نزيف في الأنسجة العضلية، تحلل في الخلايا العصبية وقد يحدث الموت نتيجة الحقن أو تناوله مع الطعام أو التطبيق السطحي، وبناء على أن الأفلاتوكسين تسبب سرطان الكبد فإن trichothecenes هو أكبر سم فطري يهدد صحة الإنسان والحيوانات نتيجة كثرة الأعراض المختلفة .

٢ - بعض السموم الفطرية الأخرى التي تنتج بواسطة *Fusarium* species مثل zearalenone وهو هرمون estrogen بالإضافة أنه سم فطري حقيقي .

- مركب moniliform عبارة عن مركب حلقي من أربعة ذرات كربون .

- fusaric acid وهو phytotoxin متواجد في أمراض النبات .

- fumoinisin B هو أحد السموم المعزولة من فطر *F. moniliforme* ، ومعظم سموم الفيوزاريوم لها سمية حادة وبعضها مسببا سرطان للإنسان .

- B fumonis عبارة عن جزيء يسبب leucoencephalomalasia وهو مرض يصيب المخ في الخيول ، ويحفز الاصابه بسرطان الكبد ، ويسبب سرطان المرء .
عموماً الـ *Fusarium species* أحد مسببات أمراض النبات ويكون مرتبطاً مع النباتات والتربة الزراعية وينمو في المحاصيل قبل حصادها ، وينمو فقط عند مستوى عالى من الماء ولذلك فإن السموم الفطرية تنتج قبل أو بعد الحصاد مباشرة .

Fusarium sporotrichioides

يسبب أمراضاً حيوانية خطيرة وذلك من التسمم الخطير للحبوب وقشرة حبوب الفاصوليا في اليابان ، ويسبب عفن الذرة في الولايات المتحدة الأمريكية . وهذا الفطر يفرز T - 2 toxin بالإضافة الى بعض العزلات المعروفة بإنتاج :

butenolide , fusarenon - X , neosolaniol and nivalenol

كما يوجد بدرجة أقل كل من :

zearalenone , deoxynivalenol , trichothecenes

ويعتمد نموذج السمية بواسطة عزلات هذه الأنواع على الإنتاج النسبى لتلك السموم المختلفة. ويعتبر T - 2 toxin أهم السموم الغذائية للإنسان والتي تنتج من تناول حبوب عفنه مصابه بفطر *F.sporotrichichiods* وأعراض السمية كما سبق وصفها ويوجد هذا الفطر في المناطق المعتلة على محاصيل الحبوب على الرغم أنه تم عزله من كل من الفول السوداني وفول الصويا.

Fusarium equieti

هو أحد أمراض النبات المنتشرة بدرجة كبيرة Soil saprophyte ومرتبطة بأمراض الحيوان وأحد مسببات human leukemia (مرض ابيضاض الدم) .

فطر الـ *Fusarium equieti* ينتج سموم فطرية تشمل :
nivalenol, fusarenon – X , T – 2, diacetoxyscirpenol,
butenolide , zearalenone

وقد ثبت ارتباط الفطر *F. equieti* مع ابيضاض الدم واقترح أن
diacetoxyscirpenol هو المسبب المحتمل . تم عزل هذا الفطر
من غبار المنازل في الولايات المتحدة الأمريكية عندما أصيب
شخصان بالـ leukemia والمادة المتعزولة كانت قادرة على خفض
المناعة في الخنازير، ثبت أيضاً ارتباط ذلك الفطر بالأمراض
الحيوانية مثل مرض degnala وهو مرض يصيب الجاموس التي
تتغذى على قش الأرز المصاب، وقشر الفاصوليا المسمم للخيول في
اليابان، وكذلك يسبب الإصابة الغضروفية، ومرض العظام في
الحيوانات الداجنة .

أعراض السمية بواسطة *F. equieti* تعكس الطبيعة الكامنة للـ
trichothecene toxicoses وكمية السموم الناتجة بواسطة نوع
واحد ونسبة كل toxin تكون تحت تأثير نشاط مادة التفاعل ودرجة
الحرارة والماء، وتم عزل هذا الفطر من أنواع مختلفة من الحبوب
المصابة والسموم الناتجة من هذه الحبوب تستهلك في غذاء الإنسان
في كثير من الأماكن من لوقت لآخر مما يسبب مدى كبير من
الأمراض للحيوانات. فطر *F. equiseta* يصيب التربة على مستوى
العالم ويمتد من الأسكا إلى المناطق الاستوائية وتم فصله أيضاً من
أصناف عديدة من النباتات حيث يسبب عفن للسيقان والجذور على
وجه الخصوص ولقد تم فصله من حبوب المحاصيل مثل الذر
والشعير.

Fusarium graminearum

هذا الفطر يسبب أعراض الهرمون المسبب للدورة النزوية.
estrogenic syndromes، ويسبب أعراض رفض الغذاء والقيء
في الخنازير وبعض الحيوانات الأخرى، كما يسبب سمية للإنسان
مشابهة للناتج من الحبوب المصابة .

السموم الأساسية التي تنتج بواسطة *F. graminearum* هي :

Deoxynivalenol (DON or vomitoxin) , nivalenol ,
zearalenone

وكذلك يوجد الآتى ولكن تكرر وجودها يكون أقل :

Diacetoxyscirpenol , fusarenon – X and butenolide

أما إنتاج 2 – T كان غير ثابتاً .

وجد أنه يمكن فصل كميات بالجرام من الـ DON الذى يسبب قئ
ورفض الغذاء فى الخنازير عند مستوى يقرب من 5mg/kg فى
الغذاء.

التأثير الهرموني المسبب للدورة النزوية بواسطة المركب
zearalenone فى الحيوانات كاعراض معروفه، أما حبوب الذره،
الشعير والقمح المصابة بالفطر *F.graminearum* والمنتجة
zearalenone تسبب مشاكل تناسليه فى الحيوانات المنزلية
خصوصاً فى الخنازير، والأعراض تشمل عسر التنفس، الاستسقاء.
تتكون أورام فى الاعضاء التناسلية فى الخنازير الصغيرة، مع حدوث
مشاكل وتلف فى الجهاز التناسلى تشمل عدم الخصوبة، امتصاص
الأجنة أو جفافها وعفنها mummification، إجهاض، انخفاض
حجم المواليد، ولقد تأثر أيضاً ذكور الخنازير عن طريق ضمور
الخصيات ونقص فى الشهوة الجنسية .

ولقد ظهر فى اليابان مرض فطرى يسمى akakabi – byo
(مرض العفن الأحمر) وذلك نتيجة وجود فطر *F.graminearum*
على القمح والشعير، الشوفان والأرز، والأعراض تشمل فقدان
الشهيه، غثيان، القيء، الصداع، آلام فى البطن وإسهال وتشنج.
وتدخل الميتابوليت الناتجة الى وجبات الإنسان من خلال استهلاك
الحبوب المصابة. ولقد وجد أيضاً أن كلا من Deoxynivalenol,
nivalenol, zearalenone تم فصلها من الذرة ودقيق الذره
ومنتجات الذرة الأخرى والقمح المصابة بالفطر فى الولايات المتحدة
وكندا وأفريقيا.

وفطر *F.graminearum* كأحد أمراض النبات خاصة القمح يسبب
عفن تاجى عند قاعدة الساق وعفن فى الحبوب النامية. ويسبب أيضاً
عفن من قوالمح الذرة .

Fusarium moniliforme

ولقد تم التعرف على أكثر من نوع على الذرة وله علاقة بمرض الإنسان والحيوان. وتم إقرار أن المرض الحيواني الوحيد بسبب *F.moniliforme* هو المرض الذي يصيب الخيول يسمى leukoencephalomalacia (LEM) وهو مرض يصيب المخ في الخيول، وظهر هذا المرض مبكراً في الولايات المتحدة الأمريكية عام 1850 وبصورة وبائية بين منات أو آلاف من الخيول عام 1900، 1930 وحتى 1979، ولقد ظهر أيضاً في عدد من الدول مثل الأرجنتين، الصين، مصر وجنوب إفريقيا .

واقترح أن فطر *F. moniliforme* يسبب عدد آخر من الأمراض الحيوانية مثل تسمم للخيول في اليابان نمو غير طبيعي للعظام أو مرض الكساح في الدواجن والخنازير في الولايات المتحدة الأمريكية وفرنسا وألمانيا والسموم toxicosis الراجعة إلى تعفن البطاطا في الولايات المتحدة الأمريكية.

المعدل العالي لحدوث سرطان المري في الإنسان human esophageal cancer في جنوب أفريقيا كان مصحوباً باستهلاك الذرة وربما كذلك بالفطر *F. moniliforme* وأهم السموم الناتجة بواسطة هذا الفطر هو fumonisin B وهذا المركب عبارة عن جزئ يتكون من سلسلة أليفاتيه عددها 20 ذره كربون متفرع منها مجموعة إستر محبة للماء.

فطر *F. moniliforme* النامي في الذرة عرف بأنه المسئول عن مرض LEM (مرض يصيب المخ في الخيول) وهذا المرض سبب مشكله خطيرة في الولايات المتحدة الأمريكية في حزام الذرة لمدة 100 سنة وسبب موت آلاف من الخيول ولقد ثبت حديثاً أن الـ fumonisin من السموم المسئولة عن LEM.

تأثير الـ fumonisins على الإنسان غير معروف ولكن الحقيقة أن fumonisin B يحفز السرطان في الفئران، وقد اقترح أن له دوراً في سرطان المري في الإنسان . ولقد وجد أن الذرة هو الغذاء الرئيسي حيث كان سرطان المري وبائياً. ولقد كان الاختلاف الرئيسي بين مناطق حدوث الإصابة العالية والمنخفضة ترجع إلى

الاصابه العاليه للذره بواسطه *F. moniliforme* وعموماً فان اكتشاف fumonisins يفسر دور هذا الفطر فى سرطان المرئ فى الإنسان.

ولقد تم عزل من هذا الفطر مركبات أخرى بكميات قليله مثل moniliformin المعروف بسميته وكذلك بعض المركبات التى تتفاوت فى سميتها مثل:

fusaric acid, fusarins, and fusariocins

ولقد تم تسجيل إنتاج :

T – 2 Toxin, diacetoxyscirpenol and zearalenone

عموماً فان السمية المعروفة لفطر *F. moniliforme* لعدد كبير من الحيوانات ودوره فى سرطان المرئ فى الإنسان يرجع أساساً إلى اكتشاف fuomonisins .

وجد أن أعراض التسمم بواسطه فطر *F. moniliforme* يختلف تبعاً لنوع الحيوان والجرعة والمادة السامة الفطرية المعزولة منه. والمرض الناتج بواسطه الفطر هو LEM الذى يسبب ضرر موضعى مع تحلل المادة البيضاء فى مخ الخيول، وظهور سميه عصبية مع فقدان التحكم فى العضلات مما يؤدى إلى المشي بلا هدف يتبعه الموت والذى يحدث بعد حوالى أسبوعين من تناول المادة السامة فى الغذاء. ووجد ان سموم الفطر *F. moniliforme* تسبب قصور فى القلب فى حيوان الـ baboons وكذلك كانت الدجاج والبط حساسة جداً للغذاء المحتوى *F.moniliforme* وان المادة السامة المسئولة هى moniliformin. ولقد تميزت أعراض سميه أحد المركبات المعزولة من هذا الفطر فى الفئران باحداث تليف كبدى وجلطه فى القلب وتشوه فى الأنسجه. ووجد 15 عزله مميته من 20 بينما 5 عزلات كانت غير سامه. وكان الفطر *F.moniliforme* يسبب نمو العظام بدرجة شاذة وأمراض مثل الكساح فى الدجاج وأحيانا بنسبه موت عاليه، المرض الرئيسى الذى يصيب الإنسان المرتبط بفطر *F. moniliforme* هو سرطان المرئ. وعموماً فطر *F. moniliforme* يسبب عفن سيقان وقوالح الذرة وأمراض فى الأرز والذرة الرفيعة وقصب السكر.

ثانياً : أنواع فطر أسبرجيلس المسببة للسموم الفطرية :
Mycotoxigenic species of *Aspergillus*:

Aspergillus species موجودة بدرجة كبيرة في البيئة خصوصاً في التربة والنموات الخضرية التالفة ولكن عدد من الأنواع مرتبطاً بدرجة كبيرة بطعام الانسان خصوصاً الحبوب والمكسرات. معظم الأنواع تنمو في الجفاف xerophilic ولها القدرة على إتلاف الطعام في حدود رطوبة آمنة وأكثر الأنواع المنتجة للسموم mycotoxigenic هي:

Aspergillus flavus and *A. parasiticus* التي تنتج aflatoxins، *A. ochraceus* ينتج ochratoxin، أما *A. versicolor* ينتج sterigmatocystin.

كل من *A. flavus* and *A. parasiticus* مرتبطة بدرجة كبيرة مع فطريات *A. oryzae* and *A. sojae* والتي تعتبر هامة في صناعة الطعام المختمرة في آسيا ولكنها لا تنتج aflatoxin

فطريات *A. flavus* and *A. parasiticus* تنتج أفلاتوكسين فقط في الطبيعة ويوجد أربعة أفلاتوكسين منتجة طبيعياً هي aflatoxins B1, B2, G1 and G2 الرموز B and G ترجع الى الألوان الزرقاء والخضراء الفلورسنتي التي تظهر تحت ضوء الـ U.V على TLC plates والأرقام 1، 2 توضح المركبات الكثيرة والقليلة بالترتيب.

عند وجود aflatoxins B1 and B2 في لبن البقر فإن حوالي 1.5% يحدث له إضافة هيدروكسيل ويفرز في اللبن في صورة aflatoxins M1 and M2 ذو السمية المنخفضة عن الجزيئات الأساسية ولكن بدرجة معنوية بسبب كثره استهلاك لبن الأبقار بواسطة الأطفال.

والأفلاتوكسين لها سمية حادة ومزمنة للحيوانات والإنسان حيث تسبب أربعة تأثيرات ملحوظة: ضرر حاد بالكبد، تليف الكبد، تحفيز حدوث أورام، تأثيرات تشويهية *teratogenic effects*.

والسمية الحادة للأفلاتوكسين على الإنسان لوحظت في عام 1967 حيث أن 26 فرداً من تايوان في مجتمعات زراعية أصبحوا مرضى بالقسم الغذائي ظاهرياً وكان منهم 19 طفلاً حياً ومات ثلاثة أطفال . الأرز المتأثر كان أخضر مسود وعفن، وكانت عينات الأرز المتعفنة تحتوى حوالى 200 ug / kg من أفلاتوكسين B_1 ومن المحتمل أنه كان المسئول عن انتشار الإصابة .

في عام 1974 انتشر الفشل الكبدى hepatitis بين 400 هندياً ومات منهم 100 فرد ناتجاً تقريباً من الأفلاتوكسين ولقد وجد أن هذا راجعاً الى تلوث الذرة بالفطر *A. flavus* والذي يحتوى حتى 15 ملجم/كجم أفلاتوكسين ووجد أن السم الفطرى المستهلك بواسطة الأفراد البالغون المتأثرون كان يصل 2-6 ملجم فى اليوم للفرد ويمكن بذلك استنتاج أن الجرعة الحادة المميتة للإنسان البالغ بحسب الوزن تصل إلى 10 ملجم .

Kuroshiorker وهو المرض الذى يصيب الأطفال فى جنوب أفريقيا وأماكن أخرى وفى العادة يرجع الى النقص الغذائى ولكنه قد يعود أيضاً إلى كميته الأفلاتوكسين المتواجدة فى الطعام. والأفلاتوكسين المحفزة لضرر الكبد قد تجعل الأطفال المصابة بمرض Kuroshiorker أقل قدره على استيعاب الوجبات الغنية بالبروتين الموصى بها فى العادة لعلاج هذا المرض.

$aflatoxin B_1$ ثبت وجوده فى حيوانات مختلفة كمسبب قوى جداً لسرطان الكبد ووجد أن سرطان الكبد فى الإنسان منتشر فى وسط أفريقيا وجنوب شرق آسيا وهناك ارتباطاً بين سرطان الكبد فى الإنسان والأفلاتوكسين. التعرض السابق أو فى نفس الوقت لفيروس الفشل الكبدى hepatitis B قد يكون متطلباً أساسياً لحدوث سرطان الكبد فى الإنسان، وهذا يظهر أن كل من أفلاتوكسين، hepatitis B هي مسببات سرطانية ومن المحتمل أن ينتشر سرطان الكبد فى الإنسان بدرجة عالية فى المناطق التى يكون فيها كلا من

أفلاتوكسين، hepatitis B سائدين، ولقد تميز انتشار المرض بأعراض. مثل شعور بالأرق مع ظهور سريع لتجمعات سائله وارتفاع في الضغط وذلك مع وجود مصادر السموم في الغذاء، على أى الأحوال فإن تناول أفلاتوكسين في الطعام بمستويات منخفضة يكون ضرورياً لحدوث سرطان الكبد وتكون الأعراض غير ملحوظة ويحتاج فترة تحفيز طويلة.

فطر *A. flavus* موجود في الطبيعة في كل مكان وقت ووجد أن الأفلاتوكسين أكثر انتشاراً نتيجة توالد الفطر في الغذاء معطياً أهميته الطبية والاقتصادية، أما فطر *A. parasiticus* أقل شيوعاً ولكن مدى وجوده غير واضح بواسطة الاتجاه لتسجيل *A. flavus* , *A. parasiticus* كانه *A. flavus* فقط.

وهذان الفطران لهما قابلية للـ nuts and oil seeds ويعتبر الفول السوداني والذرة وبذور القطن أكثر المحاصيل إصابة بواسطة *A. flavus* وافترض في أول الأمر أن هذه الإصابة قد ترجع إلى التجفيف أو التخزين غير المناسب مما يؤدي إلى تواجد الأفلاتوكسين في المناطق الاستوائية الرطبة ولكن بعض الدراسات الحديثة أقرت أن فطر *A. flavus* يغزو تلك المحاصيل قبل حصادها.

إصابة الذرة قبل الحصاد تعتمد على الإصابة الحشرية في القوالب النامية، والفطريات تصيب أسفل شعيرات كوز الذرة وأسفل القوالب، وقد يغزو كيزان الذرة النامية. كذلك محاصيل الحبوب تعتبر شائعة لنمو فطر الـ *A. flavus* وتتلف بواسطة الفطر، ويتواجد الفطر أيضاً في التوابل. على أى الأحوال في الدول النامية تستخدم التصنيف وصرامة الإجراءات وطرق التنظيف لتقليل الأفلاتوكسين الى أقل المستويات في الطعام وبأقل ضرر ملحوظ.

Aspergillus ochraceus هذا الفطر يرتبط بالأنواع المنتجة ochratoxin A مثل الفطريات *A. alliaceus* , *A. melleus* , *A. sclerotiorum* and *A. sulphureus* ولكن *A. ochraceus* هو الأكثر تواجداً.

والسم الناتج بواسطة هذه الفطريات هو Ochratoxin A وينتج أيضاً بواسطة الفطر *Penicillium verrucosum*.

ووجد أيضاً أن الفطر *A.ochraceus* ينتج penicillic acid وهو سم فطري منخفض السمية.

وأعراض السمية الناتجة بواسطة ochratoxin A تمت مناقشته مع فطر *P.verrucosum*. أما الـ penicillic acid فانه مسبب لسرطان الكبد في بعض الحيوانات وقد يؤثر أيضاً على القلب. التواجد الطبيعي لفطر *A.ochraceus* وأنواعه الأخرى يكون في المواد الخضراء والبذور والفاكهة الجافة أو التالفة، وينتشر هذا الفطر بدرجة كبيرة في الأغذية خصوصاً الأغذية الجافة مثل أنواع مختلفة من الفاصوليا، الفاكهة الجافة واللحوم المقددة والأسماك المملحة وكذلك في المكسرات والبقول السوداني والبيكان. ولقد تم عزل هذا الفطر من مدى واسع من محاصيل الحبوب مثل الشعير والقمح والدقيق والأرز.

Aspergillus versicolor ينمو بمستعمرات لونها أخضر ويوجد نوع قريب منه هو *A. sydowii* له كثير من الخواص ولكن مستعمراته الطيفية لونها أزرق بالإضافة الى أخضر رمادي.

السم الفطري Sterigmatocystin ينتج بواسطة عدة فطريات مختلفه، ولكن كان أهمها *A.versicolor* وهذا المركب قد يتكون منه أفلاتوكسينات ولكن سميته الحادة عن طريق الفم كانت منخفضة بسبب ذوبانه المنخفض في الماء أو العصارة المعدية. وعلى ذلك فإن هذا المركب من غير المحتمل يكون مسنولاً عن السمية الحادة في الإنسان أو الحيوانات المتزاوجه ونتيجة هذا الذوبان فإن الجرعات التي تصل الحيوانات تمتص بأقل مدى .

ولقد وجد أن LD₅₀ تتراوح بين 60 to 800 mg/kg b.w وعلى أي الأحوال فإن الجرعات المنخفضة تسبب تغيرات مرضيه للكبد في الفئران.

ومن ناحية التسبب في سرطان الكبد فإن المركب sterigmatocystin أظهر قوة 150/1 من قوة aflatoxin B₁ ولكنه ظل أكبر قوة من بعض المركبات المعروفة كمسببات لسرطان

الكبد. وجد أن المستويات 15µg/day تغذية مستمرة أو جزئياً 10 mg فردية سببت سرطان الكبد في 30% أو أكثر في ذكور الفئران ولقد ثبت أن هذا المركب له قوة إحداث سرطان الكبد في الإنسان.

ويتواجد فطر *A. versicolor* عند الحصاد في بعض المحاصيل مثل القمح ولكنه تم عزله بدرجة كبيرة من المواد المخزنة مثل القمح والذرة والدقيق والأرز وبعض المكسرات واللحوم المخمرة والمقددة وبعض أنواع الجبن.

ثالثاً : أنواع فطر بنيسيليوم المسببة للسموم الفطرية :

Mycotoxigenic species of *Penicillium* :

أكبر جنس به 150 نوع معروف منها 50 نوع أكثر تواجداً، تنمو وتكون الجراثيم على بيئات صناعية وشبه صناعية. أنواع الـ *Penicillium* المنتجة للسموم في الغذاء كالاتي :

نوع الفطر ..	المركبات الناتجة
* <i>P. citreonigrum</i>	Citreoviridin
* <i>P. citrinum</i>	Citrinin
<i>P. crustosum</i>	penitrem A
<i>P. islandicum</i>	cyclochlorotine, islanditoxin, luteoskyrin and erythrokyrin
<i>P. verrucosum</i>	ochratoxin

Penicillium citreonigrum

المرض المعروف باسم برى برى beriberi كمرض غذائي راجع لنقص الفيتامينات وهذا المرض أكثر من مرض فردي واحد أشكاله في اليابان المعروف بـ acute cardiac beriberi وتم تعريفه بأنه mycotoxicosis ولقد وجد أن الأرز الأصفر المصاب بالغفن هو السبب المحتمل لمرض برى برى القلب الحاد، وهذا المرض إختفى تدريجاً من اليابان.

ولقد أظهر بعض الباحثين أن مرض acute cardiac beriberi يرجع إلى نمو فطر *P. citreonigrum* والـ mycotoxin المسنول هو citreoviridin.

وأصبح مرض acute cardiac beriberi تاريخياً فقط. ووجد أيضاً أن citreoviridin ينتج بواسطة الفطر *P. ochrosalmoneum* ومركب citreoviridin هو جزيء غير عادي يتكون من حلقة لاكتون مرتبطة تبادلياً مع حلقة فيوران بوزن جزيئي 402 وهو سم عصبي، حاد السمية للفئران بـ $LD_{50} 7.5 \text{ mg / kg (ip)}$ و $20 \text{ mg / kg (oral)}$

ومركب citreoviridin يسبب قي، تشنجات، شلل تصاعدي إيقاف التنفس، تيبس في الأطراف، خلل في الاوعية الدموية شلل وترهل في العضلات وقد تظهر في الثدييات أعراض عصبية ونقص في الاستجابة الحسية.

ينمو الفطر *P. citreonigrum* في الأرز بعد الحصاد عندما يصل المحتوى الرطوبي 14.6%، وفي حالة 1% رطوبه أعلى يسمح بنمو فطريات أخرى.

P. citrinum

أهمية هذا الفطر ليست فقط فيما ينتجه من سموم فطرية mycotoxins خاصة للإنسان ولكن في تواجده وانتشاره في كل الأماكن والأوقات وعلى ذلك فإن أي سموم يتم إنتاجها بواسطة هذا الفطر تنتشر بدرجة كبيرة في الطعام والمواد الخاصة بالطعام مثل الحبوب المطحونة والدقيق والحبوب السليمة خاصة الأرز والقمح والذرة . وهذا الفطر هو المنتج الرئيسي لمركب citrinin واعتبر عند اكتشافه مضاداً حيوياً قوياً ولكنه بعد ذلك ثبت أنه سام جداً في الاستعمالات العلاجية وأصبح معروفاً كأحد السموم الفطرية الخطيرة جداً .

ولقد وجد أيضاً أن citrinin ينتج أيضاً بواسطة *P. expansum* and *P. verrucosum* ولقد رصدت المراجع أن

حوالى 22 نوع من البنسليوم تنتج مركب citrinin لكن غالبيتها تعتبر مرادفات أو تحتاج إلى تطابق تركيب.

مركب citrinin يسبب سمية للكلى والعصارة المعدية فى الحيوانات المنزلية، والطيور المنزلية حساسة أيضا حيث يسبب لها إسهال مع زيادة فى استهلاك الغذاء، ونقصاً فى الوزن بسبب تلف الكلى فى الدجاج والبطة والتركى ويسبب موت متأخر لهم حيث أن LD_{50} كانت غير واضحة أما فى الفئران فإن $oral\ LD_{50} = 110\ mg/kg$.

عموماً فإن تلف الكلى فى الإنسان قد يرجع نتيجة التناول الممتد والطويل لهذا المركب، مع الأفعمه ولقد وجد أن citrinin ليس له أعراض ملحوظة على الحيوانات مسبباً تدهوراً تدريجياً فى وظائف الكلى.

Penicillium crustosum

هذا الفطر كان غير شائعاً منذ 1949 وحتى الأعراض الخطيرة مثل الرعشة والسمية العصبية فى الحيوانات المنزلية كانت مرتبطة بأنواع أخرى مثل *P. palitans*, *P. cyclopium*, *P. viridicatum*, *P. commune*, *P. aurantiogriseum* والسم المسنول معروفاً باسم penitrem والمصدر الرئيسى له وجد أنه *P. crustosum* وهذا الفطر معروفاً الآن بانتشاره فى الغذاء والمواد الغذائية.

ولقد وجد أن المركب penitrem ينتج أيضاً بواسطة الفطريات : *P. canescens*, *P. crustosum*, *P. glandicola* (= *P. granulatum* and *P. janozowskii* (= *P. nigricans*))

ووجد أيضاً الفطر *P. crustosum* ينتج كل من: roqueforine and cyclopiazonic وبكميات قليلة مركب penitrem A هو سم عصبى قوى له $LD_{50} = 1\ mg / kg$ فى الفئران حقناً تحت الجلد، ولقد انتشر الموت أو تلف المخ بين الحيوانات مثل المواشى والكلاب وأعراض التسمم بهذا المركب كانت تبدأ برعشه مستمره لفترات طويلة والتي تتداخل مع الوظائف

العادية للحيوانات المعملية وعلى أى الأحوال فإن زيادة نسبة صغيره فى الجرعات (من 5 الى 20 مره) تكون مميتة بسرعه. عموما إصابة الانسان قد تكون فى صورته دوخه وقئ بعد استهلاك مشروبات أو طعاماً ملوثاً بالنمو الفطرى العفن. وهذا الفطر قد يسبب فساداً للذره واللحوم المصنعه والجبن، والفاكهه والمكسرات ولقد ثبت وجود penitrem A فى غذاء الحيوان والانسان .

P. islandicum

هذا الفطر يتميز بنموه البطئ وكثافة مستعمراته بلون برتقالى لامع إلى لون بنى، ينتج فطر *P. islandicum* على الأقل أربعة سموم فطريه :

١- Cyclochlorotine

٢- Islanditoxin

عبارة عن ببتيد حلقى يحتوى كلورين وكلاهما به الجزء السام ، حلقه بيروليدين مرتبطه معها ذرتان كلور متشاركة فى خواص كيميائية وفزيائيه. كلا المركبين سام جداً حيث cyclochlorotine له قيمة oral LD50 فى الفئران (6.5 mg/kg) بينما المركب islanditoxin عن طريق الحقن تحت الجلد 3 mg / kg ولوحظ أن تغذية الفئران بمعدل 40ug / day فإن مركب cyclochlorotine تسبب تليف الكبد وأورام فى الكبد.

٣- المركب Luteoskyrin عبارة عن dimeric anthroquinone

٤- Erythroskyrin صبغه حمراء غير متجانسه الحلقة .

وكلاهما ذو سمية للكبد والكلى ومع ذلك له سمية حادة أقل عن cyclochlortine ووجد أن المركب Luteoskyrin مسبب سرطانى وهذا الفطر وجد أنه أيضاً يسبب إصفرار الأرض.

P. varrucosum

وجد أن انتشار مرض الكلى بين بعض الحيوانات مثل الخنازير كان مرتبطاً بتعفن الحبوب ووجود هذا الفطر وكان الشعير يمثل المصدر الرئيسى لهذا الفطر ووجد أنه ينتج :

oxalic acid, citrinin and ochratoxin، وهذا الفطر يعتبر مصدراً رئيسياً لـ ochratoxin A في المناخ المعتدل اما في المناطق الاستوائية فان فطر *A. ochraceus* يكون هو الأكثر أهمية.

ochratoxin A يذوب في الدهون ولا يمكن إفرازه وبالتالي يتراكم في الأنسجة الدهنية وعلى ذلك يسبب أضراراً خطيرة للإنسان خصوصاً في المناطق الريفية والتي فيها الخنازير ليست تحت رقابه وفحص جيد قد تحتوى على مستوى عالى من الـ ochratoxin. وهذا الفطر هو المصدر الرئيسى لـ nephrotoxin ochratoxin A الذى يسبب سمية حادة للكلب بقيمة oral LD50 = 20mg/kg في الـ rats الصغيرة، 3.2mg/ kg للكتاكيت ذو عمر يوم واحد، وهو مميت أيضاً لبعض الحيوانات الأخرى.

والأعراض المرضية التي تظهر بعد الجرعات المميتة عبارة عن تحلل موضعى لأنسجة القنوات البولية وخلايا الكبد. وفي الإنسان فإن مركب ochratoxin A يعتبر مسئولاً عن تلف الكبد والتي قد يؤدي إلى الموت في الحالات الحادة وهذا الفطر يتواجد في المناطق المعتدلة ويوجد في الشعير وتم عزله من منتجات اللحوم في ألمانيا.

الباب السابع
نظرة عن الطرق التحليلية
للتلوث بالسموم الفطرية
في الذرة وفول السوداني

**Overview of analytical
methods for mycotoxin in
maize and peanuts**

الباب السابع

نظرة عن الطرق التحليلية للتلوث بالسموم الفطرية
في الذرة وفول السوداني

Overview of analytical methods for mycotoxin in maize and peanuts

يوجد نوعان أساسيان لاختبار ماذا تم لاكتشاف أو تقدير السموم الفطرية من الناحية الكيميائية والبيولوجية. طرق الاختبارات الحيوية تكون وصفية فقط أو شبه كمية وتكون في الغالب غير متخصصة وتكون مفيدة لتوضيح السموم غير المعروفة الموجوده ومفيدة في الدراسات لعزل السموم الفطرية الجديدة. بمجرد التعرف على أحد السموم الجديدة فانه من المحتمل في العادة تطوير اختبار كيميائي مناسباً لاكتشافه وتقدير كميته. الاختبار الكيميائي يكون ثابت تقريباً سريع، ذو تكاليف منخفضة وأكثر تخصصاً، أكثر تكرارياً، أكثر حساسية وذلك بالمقارنة بالاختبار الحيوي المقابل. الاختبارات الكيميائية تكون مناسبة للتحاليل الروتينية. (المستمرة) المحتاج إلى التحكم في النوعية وعمل الاحصائيه. اختبارات المناعة immunoassays هي خليط من الاختبارات الكيميائية والبيولوجية وهي حساسة جداً ومتخصصة مما يجعلها لاختبارات سوائل الجسم وغيرها لتتبع آثار المادة السامة.

التحليل الكيميائي: Chemical Analysis

كل طرق التحليل الكيميائي للسموم الفطرية تندمج في طرق موحده:
طرق أخذ العينات وتجهيز العينة:

Sampling and Sample Preparation:

تعتبر من أهم الخطوات، إذا كانت العينة المأخوذة للتحليل لا تمثل المجموع كله، فان نتائج التحليل تكون ليست لها معنى، وذلك بسبب التوزيع المتفاوت للسموم الفطرية التي في العادة توجد في السلع الملوثة، فيجب إتباع طريقه مناسبة لأخذ العينة.

تجهيز العينة يشمل طحنها وتقسيم العينة للحصول على عينة للتحليل ممثله واستعمال معجون مائي water slurry يكون أكبر مما يعطى الفرصه لأخذ عينة ممثله للتحليل. فمثلا اكجم من المادة المطحونة تمزج فى الخلاط على سرعة عاليه مع كميته مناسبة من الماء لإعطاء عجينه متجانسة والتي تقسم بالتساوي إلى كميات 100 جرام متساوية للتحليل.

الاستخلاص: Extraction

المذيبات العضوية الأكثر استخداما لاستخلاص الـ mycotoxins هي:

Chloroform , acetonitril , methanol and acetone
تخلط هذه المذيبات بنسب معروفه من مذيب أكثر قطبيه مع (الماء، حمض مخفف، محلول ملح مائي) للمساعدة على كسر الروابط الاليكروستاتيكية الضعيفة التي تربط بعض السموم الفطرية مع جزيئات مواد أخرى (مثل البروتينات).
المادة المطحونة ويفضل أن تكون فى صورة عجينة مائية إما ترج مع مذيب الاستخلاص لمدة 30 – 45 دقيقة او تمزج فى الخلاط على سرعة عاليه لمدة 3 دقائق .

التنظيف : Clean – up

السموم الفطرية mycotoxins هي مجموعه متباينة من المركبات الكيميائية والتي من الصعب إيجاد طريقه بسيطة تزيل بالتخصص مركبات الـ non-mycotoxins المتداخلة وتترك الـ mycotoxins فى المستخلص، ولهذا السبب من الصعب إيجاد طريقه جيده لفحص واختبار مدى واسع من السموم الفطرية فى نفس الوقت، ومن المحتمل ابتكار طرق تزيل المواد المتداخلة من غير السموم الفطرية من المستخلص وتترك mycotoxin معين أو مجموعه منه فى المستخلص.

طرق التنظيف المعروفة المستعملة :

Common clean – up techniques :

أ. إزالة الدهون : يتم قبل خطوة استخلاص المادة السامة ويستعمل مذيبات الاثير البترولى أو الهكسان لاستخلاص الدهون من العينة باستخدام جهاز سوكسليت Soxhlet. وهذه الخطوة تكون لازمه فقط عندما تكون خطوة الـ clean – up التالية غير قادرة على التخلص من الدهون.

ب. طريقه column – chromatography المستخدمة على مدى واسع من التطبيق وتستخدم فى عدد من الطرق المنتظمة أو الرسمية المتفق عليها . يعبا عمود زجاجى بماده أو أكثر من المواد المدمصه، ثم يضاف المستخلص الخام إلى قمة العمود. ويتم إزاحة العمود بسلسلة من المذيبات أو مخلوط من المذيبات والتي تهدف أولا إلى الازاله للمركبات المتداخلة ثم بعد ذلك يتم إزاحة الـ mycotoxins المطلوبة، بينما المركبات المتداخلة الأخرى تبقى مرتبطة بقوه على العمود . عند استعمال عمود صغير فى اختبار سريع للأفلاتوكسين لإزالة المركبات المتداخلة وللاكتشاف الوصفى للأفلاتوكسين إلى أقل من أجزاء فى البليون (ppb).

ج. الترسيب : طريقه مفيدة جداً والتي بواسطتها كيماويات معينه (والتي تكون أحيانا فى صورة غروية) تضاف إلى المستخلص الخام والتي تمتص صبغات معينه، بروتينات وبعض المركبات الأخرى المتداخلة على سطحها. يتكون رواسب من المحلول ويتم ترشيحها تاركة محلول الـ clean – up. وجواهر الترسيب الهامة تشمل: كربونات الحديدك، كبريتات الأمونيوم، خلاص الرصاص، جيل الحديدك .

د. التوزيع بين السائل – السائل Liquid – liquid partition : فى الغالب يستعمل بالاشتراك أحد طرق الـ clean – up الأخرى وأيضا لنقل السموم من نظام أحد المذيبات إلى نظام آخر ويوضع فى

الاعتبار تأثير الزيادة في تركيز السموم. يتم التوزيع في قمع فصل الذى يحتوى مذيبيان لا يمتزجان. يرج قمع الفصل لدقائق قليلة للسماح للمركبات الذائبة (والتي تشمل الـ mycotoxins) لى تتوزع بين الطبقتين. يتم اختيار المذيبات التى يفضل توزيع الـ mycotoxins إلى أحد هذه المذيبات. ويجب الحذر فى اختيار المذيبات لتقليل مخاطر تكوين مستحلب.

هـ. **Thin layer chromatography (TLC)** على الرغم أن هذه الطريقة تستعمل أساساً للكشف والتقدير الكمي للمادة السامة فإنه أيضاً مفيد لفصل الـ mycotoxins عن المركبات المتداخلة فى المستخلص. أحياناً من الضروري استعمال مدى (عدة) من المذيبات المظهرة developing solvents لفصل المواد السامة موضع الاهتمام عن المركبات المتداخلة إذا كان ذلك مستحيلاً أو يستهلك وقتاً أكبر فيمكن تطبيق الـ two – dimensional TLC.

و. **طرق clean – up أخرى:** الطرق السابق الإشارة إليها تطبق كطرق معروفة لتحليل الـ aflatoxin وتستعمل فى طرق تحليل كثير من السموم الأخرى بعض طرق الـ clean – up الأخرى تشمل reverse dialysis and base extraction بعد الانتهاء من خطوة الـ clean – up يتم مزج المستخلص لتجهيزه لخطوة الكشف والتقدير الكمي. بعد الـ clean – up فإن المستخلص المذاب غالباً فى حجم كبير من مذيب مائى aqueous solvent يتم نقله إلى حجم صغير (10-50 مل) من مذيب قابل للتطاير مثل الكلوروفورم. يتم تجفيف محلول الكلوروفورم بواسطة إمراره على كبريتات الصوديوم اللامائية، ثم يتم تبخير المذيب حتى الجفاف ويجب الحذر فى هذه المرحلة حتى لا تتعرض بعض السموم الفطرية للتحطم مثل أفلاتوكسين، وذلك إذا كان تسخين المستخلص الجاف على 100°م. ولتفادى ذلك فإن التبخير يتم بدرجة جيدة باستخدام الـ rotary evaporator عند 30°م وذلك لإنقاص الحجم إلى حجم

صغير جداً يتبعه تبخير حتى الجفاف في جو خامل مستعملاً concentrator. وفي حالة عدم وجود مثل هذا الجهاز فإن التبخير يتم باستخدام حمام مائي ويفضل أن يكون تحت تيار نيتروجين ويجب الحذر أيضاً والتأكد من نقل الدورق من على الحمام المائي قبل الجفاف مباشره أو عند نقطه الجفاف مباشرة. وتكون المستخلصات الآن جاهزة للكشف والتقدير الكمي .

الكشف والتقدير الكمي : Detection and Quantification

لحسن الظن أن الأفلاتوكسين وكثير من السموم الفطرية الهامة الأخرى تكون ضوء فلوريسنت تحت الضوء فوق البنفسجي U.V light وهذا يمكنها للكشف عند مستويات منخفضة جداً (أجزاء في البليون ppb) وهذه الطريقة للكشف تستعمل في معظم طرق تحليل السموم الفطرية.

الكشف و الاختبار الوصفي qualitative assay يتم في العادة بواسطة TLC أو الـ mini – column ويلزم Qualitative standard مثل هذا القياس يكون كافياً لكي يمكن استخدام التقدير شبه الكمي بواسطة TLC مستخدماً قاعدة التخفيف. التقديرات الكمية الذي يلزمها استخدام ماده قياسيه معروفه التركيز يمكن تنفيذها بواسطة طرق مختلفة تشمل : high performance thin layer chromatography, HPTLC, HPLC, TLC, fluorotoxinmeter (FTM).

الاختبار التاكيدى : Confirmation

يتم عمل اختبار تأكيدى إذا كان يعتقد أن الـ mycotoxin تم الكشف عنه خصوصاً عند وجود نوع جديد أو مصدر لنوع جديد لكي يتم تحليله . وعدم القدرة (الفشل) في عمل ذلك بسهولة يؤدي إلى نتائج مزيفه (بمعنى أن أى مركب متداخل يكون غير صحيح للـ mycotoxin المعلوم). معظم الاختبارات التاكيدية تشمل تكوين مشتقاً الذي يكون له خواص مختلفة (مثل لون الفلوريسنت أو القطبية) عن الـ mycotoxin المفترض . عندما يكون الكشف أو /

والتقدير الكمي بواسطة TLC فإن المشتقات قد تتكون على الشريحة plate إما بواسطة الـ spotting reagent على الشريحة قبل الإظهار أو بواسطة رش جوهر بعد الإظهار development. فمثلا استعمال trifluoroacetic acid (TFA) لتكوين aflatoxin B₁, G₁ and M₁ hemi-acetal derivatives المتعرف عليها (إذا كانت موجودة) في صورة slower running fluorescent spots (بقع فلوريسنتية تنتشر ببطء)، جوهر الرش الشائع الاستعمال للأفلاتوكسين هو (50% blue and green – blue Sulphuric acid) الذي يتفاعل مع fluorescent aflatoxin (فلوريسنت الأفلاتوكسين ذو اللون الأزرق، الأزرق المخضر) ليعطاء مشتقات فلوريسنت بلون أصفر.

تقدير نقاوة وتركيز السموم الفطرية القياسية

Determination of purity and concentration of mycotoxin standard:

السموم الفطرية النقية pure mycotoxins يمكن الحصول عليها من المصانع وتستخدم لتحضير محاليل قياسية لاستعمالها في طرق تحليل الـ mycotoxin المختلفة وأساسيا فإن التركيزات الدقيقة من المحاليل القياسية تكون معروفة والتي يمكن تقديرها بواسطة UV absorbance.

جدول (٣) : يوضح القياسات الطيفية للسموم الفطرية المختلفة :

Table (3) : Spectrophotometric Parameters for Various Mycotoxins :

Mycotoxin	Molecular Weight	Solvent	Absorbivity (E)	Maximum absorption (nm)
Aflatoxin B	312	Benzene: acetonitrile 98 : 2 (v / v)	19,800	353
Aflatoxin B1	312	Chloroform	22,300	353
Aflatoxin B2	314	Benzene: acetonitrile 98 : 2 (v / v)	20,900	355
Aflatoxin G1	328	Benzene: acetonitrile 98 : 2 (v / v)	17,100	355
Aflatoxin G2	330	Benzene : acetonitrile 98 : 2 (v / v)		357
Aflatoxin M1	328	Chloroform	19,950	357
Ochratoxin A	403	Benzene : acetic acid 99: 1 (v / v)	5,550	333
Ochratoxin B		Benzene : acetic acid 99 : 1 (v / v)	6,000	320
Ochratoxin A ethyl ester	431	Benzene : acetic acid 99 : 1 (v / v)	6,200	333
Ochratoxin B ethyl ester	397	Benzene : acetic acid 99 : 1 (v / v)		320
Patulin	154	Absolute ethanol	14,540	276
Patulin	154	Methanol	12,880	275
Sterigmato-cystin	324	Benzene	15,200	325
Citrinin	259	Chloroform	16,100	322
Zearalenone	318	Ethanol	29,700	236
Zearalenone	318	Ethanol	13,909	274
Zearalenone	318	Ethanol	6,020	316

ملاحظة :

في حالة إذا كانت المادة القياسية تذوب في مخلوط المذيبات (98:2) Benzene: acetonitrile، فيستعمل هذا المذيب كبلاّنك مرجع .

إذا كانت المادة القياسية في صورة فيلم جاف في قنينة صغيرة أو في صورة عينة بلورية، يضاف حجم صغير معروف من المذيب

المناسب بواسطة سرنجة وذلك من خلال الغطاء المطاطي للقنينة لإذابة المادة القياسية، ويتم السحب الكمي لحجم معروف من المحلول المركز وينقل الى دورق معيارى ويخفف طبقا للتركيز المطلوب.

هذه الطريقة لإذابة المادة القياسية النقية تقلل من أخطار تداول المادة عالية السمية. يقاس امتصاص المحلول القياسى للمادة السامة الفطرية absorbance of standard mycotoxin solution عند أقصى طول موجة امتصاص. معظم الـ mycotoxins لها حد أقصى امتصاص عند طول موجة بين 200 – 400 nm (جدول ١) .

يمكن حساب التركيز من المعادلة التالية :

$$\text{Concentration (ug/ml)} = \frac{\text{Absorbance} \times \text{Mw} \times \text{CF} \times 1000}{E}$$

CF هو معامل التصحيح المتصل عليه، إذا كان CF أقل من 0.95 أو أكبر من 1.05 فيجب فحص أو مراجعة جهاز التقدير الطيفى. E إمتصاصية المادة السامة موضع الاعتبار فى كل مذيب خاص بها.

جدول (٤) : تركيزات المحاليل القياسية للسموم الفطرية :

Table (4): Concentrations of Mycotoxin Standard Solutions:

Mycotoxin	Stock , ug/ml	UV, ug/ml	TLC, ug/ml
Aflatoxin B1	100	10	1
Aflatoxin B2	100	10	1
Aflatoxin G1	100	10	1
Aflatoxin G2	100	10	1
Aflatoxin M1	10	10	1
Ochratoxin	25	25	5
Patulin	40	10	40
Sterigmatocystin	100	100	100
Citrinin	40	20	40
Zearalenone	100	10	50
T – 2 Toxin	5,000	—	100
Diacetoxyscirpenol	5,000	—	100

- Stock solutions : المحاليل الأساسية يتم تحضيرها مباشرة من بلورات نقيه أو فيلم جاف
- UV solutions: محاليل تحضر مباشرة من المحلول الأساسى وتستعمل لتقدير التركيز الصحيح للمادة القياسية بواسطة جهاز UV الطيفى .
- TLC solutions : يتم تحضيره بواسطة التخفيف إما من Stock solutions أو UV solutions.

طرق أخذ العينات وتداولها وتجهيزها فى الحبوب :

Sampling , Sample Handling and Preparation in Grains and Cereals:

أولاً. طرق أخذ العينات : Sampling

يتم أخذ العينات من الأجزاء الجيدة وغير الجيدة ، حيث أنه بدون فهم طريقة أخذ العينة المختبرة لا يمكن التقييم الصحيح لمواصفات المادة تحت الفحص .

1. أخذ العينات بطريقة موحده : Uniform Sampling
أخذ العينة يجب أن يمثل متوسط المجموع الكلى، حيث تؤخذ العينات بكميات صغيرة من كل جزء من المجموع الكلى، وهنا فإن الكمية الكلية قد لا تستعمل فى الاختبار ولذلك يجب تقليل (إنقاص) العينات، وطريقة تقليل العينات تسمى التقسيم والتي تتم بواسطة أخذ الربع .

2. أخذ العينات بطريقة اختيارية : Selective Sampling
عندما تكون المنتجات مباعه طبقاً للنوعية المنخفضة فتؤخذ العينات من الأجزاء ذات النوعية المنخفضة، فمثلاً فى حالة تقدير حالة الخبز من ناحية تقدير الرطوبة فإن العينة تؤخذ من وسط الرغيف.

3. أخذ العينات بطريقة عشوائية: Random Sampling
تطبق هذه الطريقة على العينات المأخوذة من المنتجات التى لها نفس
النوعية، حيث تؤخذ العينات فردية وتكون كميات العينات وفترات
أخذها ليست ثابتة، وتكون عشوائية.

بعض المصطلحات التى توضع فى الاعتبار عند فحص البذور :

- Greatly spoiled seeds : البذور التى فيها الجزء الكلى عفن
ولا تحتوى نشا .
- Seeds destroyed by weevils : البذور المصابة بالسوس أو
بحشرات أخرى .
- Broken seeds : البذور المكسورة الى أجزاء وكل جزء أقل
من نصف البذرة الطبيعى ولكنها بذور غير ناضجة، وبذور عفته
أو مصابه بالسوس .
- Foreign material : كل الماد الغريبة غير البذور .
- Sound seeds : البذور التى لا يوجد بها بذور فاسدة أو محطمة
بالسوس أو مكسورة أو بذور بلون آخر.
- Seeds of other colour : البذور التى لها لون غير المتفق
عليه .
- Immature seeds : البذور غير كاملة النمو .
- Partially spoiled seeds : البذور التى بها جزء عفن ومصاب
بالصدأ ولا يحتوى نشا .

المواصفات الفباسبية لدرجات الحبوب (الذرة مثلا) :

Grade 1 Grains

- الحبوب السليمة وبمواصفات مسموح بها كالاتي :
- البذور بلون آخر يجب ألا تصل 1% بالوزن .
- البذور الفاسدة جزئيا مع الفاسدة كليا لا تصل 4% بالوزن ، ولكن
الفاسدة بدرجة كبيرة لا تصل 4% بالوزن .
- البذور المصابة بالسوس لا تصل 2% بالوزن .
- البذور المكسورة مع البذور غير الناضجة لا تصل 2% بالوزن .

- المواد الغريبة لا تصل 1.5% بالوزن ولكن يجب ألا تحتوى بذور زيتيه أو مواد سامه .
- لا يصل المحتوى الرطوبى 14.5% بالوزن، ويجب عدم أخذ جزء به رطوبة أكثر من 15% بالوزن .

Grade 2 Grains

بمواصفات كالآتي :

- البذور ذات لون آخر لا تصل 3% بالوزن .
- البذور الفاسدة جزئياً مع الفاسدة كلياً لا تصل 6% بالوزن، ولكن الفاسدة بدرجة كبيرة لا تصل 2% بالوزن .
- البذور المصابة بالسوس لا تصل 3% بالوزن .
- البذور المكسورة مع البذور غير الناضجة لا تصل 3% بالوزن .
- المواد الغريبة لا تصل 2% بالوزن ولكن يجب ألا تحتوى بذور زيتيه أو مواد سامه .
- لا يصل المحتوى الرطوبى 15.5% بالوزن .

ثانيا : العينات قبل التحميل : Pre - Loading Samples

1. إذا كانت الحبوب (الذرة مثلاً) فى العبوات فيجب أخذ الكميات عشوائياً على الأقل جانبين من الكومة (الجانب العلوى والجانب الآخر)، وعدد العبوات لا يقل عن 5% من العبوات فى الكومة .
2. إذا كانت الحبوب (الذرة مثلاً) فى كومة كبيرة فإن الكمية تؤخذ عشوائياً ومن خلال ما لا يقل عن طبقة بعمق 1/2 متر، 2 متر من النقط المتجاورة من كل الكومة، من كل نقطه على الأقل عينة 1/2 كيلوجرام بواسطة آلة أخذ العينات الاسطوانية.
3. فى حالة وجود الحبوب (الذرة) فى مخزن أسطوانى محكم الإغلاق (silo) فإن الكميات يجب أخذها فيما لا يقل عن 1 كجم كل منها بعمق 1 متر من الطبقة العليا حتى 3/4 من ارتفاع الذرة وتؤخذ العينات بواسطة الدوران الدائرى وستكون الكميات فيما

لا يقل عن 1/2 كجم / طن متري (M.ton). حتى 2% أو أكثر من الذرة في المخزن الاسطواني.

4. عند أخذ العينات من معظم الذرة أثناء التخزين فإن الكميات المأخوذة لا تقل عن 1/2 كجم/وحدة أما في حالة العبوة فإن الكميات على الأقل 1/2 كجم لكل حمولة أو وحدة ولا تقل عن 5% من العبوة/وحدة.

5. العينة الكبيرة لكل كومه أو مخزن تتكون بواسطة خلط الكميات وتخلط للحصول على عينات منتظمة ومقسمة للحصول على 3 كجم، ويؤخذ 6 عينات للتحليل والتحكيم.

ثالثاً : العينات المحمولة : Loading Samples

1- الحبوب (الذرة) المرسلة يجب أن تكون بشهادة بمواصفات العينات قبل التحميل أو تعتمد على المواد القياسية. يوجد نوعان من فحص العينات الأولى تسمى pre-loading sample وتؤخذ ممثله للحبوب في المخزن (في العبوة الى الكمية الكلية) والثانية هي loading sample وتجمع من الذرة المحمل للتصدير مثلاً.

2- فحص الصفات الفيزيائية والتعبئة وتؤخذ العينات من كل عبوة بواسطة حربه (رمح) أخذ العينات أو 1/2 كجم من كل وحدة أو لوري أو فتره زمنية معتمده على معدل الإمداد.

3- أثناء الفحص يؤخذ على الأقل عينة 1/2 كجم عشوائياً من الكومة أو المخزن لاختيار المحتوى الرطوبي وكل اثنان للمقارنة. عندما يكون نوعيه الذرة (الحبوب) المختبرة في مرتبه أدنى بالنسبة للقياس أو المتفق عليه فإن الفحص يوقف مؤقتاً لإبعاد الجزء الرديء. ثم تؤخذ العينات عشوائياً من جزء آخر لاختبار الرطوبة والمقارنة، وإذا كانت النوعية مقبولة فإنه يتم تحميل الذرة مره اخرى.

وفي حالة الذرة الردئ الغير راجع إلى محتوى الرطوبة فانه يمكن خلطه مع جزء آخر يكون مقبولا بواسطة عينات pre-loading ويمكن تحميله ثانياً ويعاد اختياره ثانياً:

إعداد وخطط أخذ العينات لتحليل السموم الفطرية في الولايات المتحدة الأمريكية:

Sampling, Sample Preparation and Sampling

Plans for Mycotoxin Analysis in U.S.A:

أساسياً يمكن معرفه أن الأفلاتوكسين (mycotoxin) تتوزع بطريقه غير متجانسة ، الطريقة المعدة بواسطة

Association of Official Analytical Chemist

(AOAC) لم تحدد حجماً للعينة ولكن يلزم أن العينة الكلية

لحبوب الذرة الكاملة تكون مطحونة لكي تمر من منخل No.14،

و يؤخذ 1-2 كجم من تلك العينة تطحن لكي تمر من منخل

No.20 ثم يؤخذ 50 كجم من المادة المطحونة كليه للتحليل ولقد

وضعت المعادلات التالية:

$$V = S + C + F + Q$$

V = Total variance (total error)

S = Error in sampling = $3.9539P / W_s$

C = Error in sub-sampling the coarse ground material = $0.1196P / W_c$

F = Error in sub – sampling the fine ground material = $0.0125P / W_f$

Q = Error due to the quantification = $0.0699P^2 / N_q$

W_s = mass oh sample in Kg

W_c = mass of coarse sub – sample in Kg

W_f = mass of fine sub – sample in Kg

N_q = the number of times the aflatoxin in solvent extract is quantified on a separate TLC

P = Aflatoxin concentration (ug / kg) in the lot

وهذه الدراسات تنبه الى الحقيقة أن خطأ أخذ العينات هو أكبر مشارك للخطأ الكلى، ولذلك فإن تحسين أخذ العينات يؤدي دقة كبيرة فى نتائج التحليل والتي منها يكون قرار القبول أو الرفض.

توجد عوامل لزيادة دقة اختبارات الأفلاتوكسين منها :
*زيادة حجم العينة .

*زيادة الـ sub – sample المستعملة لتحليل الأفلاتوكسين
*زيادة عدد التحاليل
وهناك تكاليف مختلفة ومرتبطة بكل عامل .

إختبار الفلوريسنت الأصفر المخضر اللامع لتقدير الأفلاتوكسين :
Bright greenish – yellow fluorescence test for aflatoxin estimation:

يوجد ثلاثة طرق أو أساليب لتقدير أفلاتوكسين فى الحبوب (الذرة):

1. إختبار افتراضى للتعرف على كميات الذرة التى قد تحتوى على المادة السامة وتقدير ما يمكن تحليله أولاً .
 2. طرق تقييم سريعة لتقدير وجود أو غياب المادة السامة ولمعرفة مدى مستوى الأفلاتوكسين .
 3. طرق كمية لتقدير نوع ومحتوى الأفلاتوكسين .
- ونظراً لأن معظم العينات لا تحتوى كمية أفلاتوكسين يمكن اكتشافها، وعلى ذلك توجد حاجة لطريقة للتعرف الصحيح على العينات السالبة (التى لا تحتوى مواد سامه) بأقل تكلفة للوقت والمال. وهذه الطريقة معروفة باسم :

Bright greenish – yellow fluorescence test (BGYF)

يتم فحص حبوب الذرة تحت لمبة (365 um) UV للضوء الفلوريسنت الأصفر المخضر المميز لداخل الحبوب الفاسدة والمكسورة، زمن الإختبار 5 دقائق أو أقل.
أساس الإختبار الافتراضى للأفلاتوكسين فى حبوب الذرة هو إختبار

عن BGYF عن طريق الضوء الفلوريست المميز تحت موجة (365 um) UV ويكون مصحوباً بوجود Kojic acid (5 – hydroxyl – 2 – (hydroxymethyl) – 4H – pyran – 4 - one) الناتج من الفطريات *A. flavus* or *A. parasiticus* المنتجة للأفلاتوكسين أو السم الفطري المحتمل نفسه .

طرق اختبار BGYF : Procedures for BYGF test

1. يتم جمع 4.5 كجم على الأقل عينات جديدة ، ويكون أفضل لو العينات أفضل.
 2. تطحن العينات خشنة أو مكسورة في مطحنة مناسبة قبل الفحص بـ الـ BGYF بسبب أن الفلوريست قد يوجد تحت غطاء البذرة .
 3. في بعض الأحيان يمكن اكتشاف ضوء ذهبي معتم تحت غطاء البذرة في منطقة الـ germ ولكنها تصبح مرئية بالكامل عندما تكون البذور مكسورة . يجب أن يوضع في الاعتبار أن عملية الطحن تنتج غباراً، وإذا كان هذا الغبار يحتوي أفلاتوكسين فإنه يمثل خطراً خطيراً للعاملين بالاستنشاق ولذلك يجب استخدام خزانة لعادم الدخان. يتم تفريغ الذرة المطحون في طبقة واحدة في عبوة سوداء.
 4. يتم الفحص تحت ضوء UV بطول موجة طويل (365 um)، ويجب استعمال ستارة لحجب ضوء الـ UV لحماية العين من التعرض المستمر.
- إلى BGYF به وهج لامع وأحياناً يسمى وهج نارى firely glow الذى يمكن تمييزه عن المادة الفلوريست الأخرى فى الذرة.

الكشف عن الأفلاتوكسين بواسطة أعمده بلاستيكية صغيره:

Plastic mini column for aflatoxin detection:

أحد الطرق لتقدير الأفلاتوكسين فى الغذاء والمنتجات الزراعية ومناسبة فى المناطق الريفية وتحتاج لإختبار نوعية المنتجات، وهذه

الطريقة تحتاج جهاز رخيص التكاليف، سهل العمل بواسطة أشخاص غير خبراء، وتكون حساسة بقدر كاف للكشف عن الأفلاتوكسين بأقل من احد المسموح به 20 ppb (ug / kg). لإتمام هذا الهدف فإن الطريقة المستعملة تستخدم plastic mini column وهو أحد أنواع الـ chromatographic tube الصغيرة، وبهذه الطريقة يمكن تقدير الأفلاتوكسين خلال ساعتين بدقة أقل من 10 ppb .

بدأ تطوير هذه الطريقة منذ عام 1976 معتمدة على طرق الـ mini column باستخدام ماصه 5 مل.

وفى عام 1979 تم عمل mini column زجاجى بشكل مخروطى من القمة بقطر 4 mm وطول 16 mm، هذا الـ mini column يحتوى على 1 مل من المستخلص، ويعبأ العمود بـ alumina, silica gel and florisil. تستخدم كبريتات الصوديوم اللامانيه لامتصاص الرطوبة. يتم تقدير الأفلاتوكسين كشریط فلوريسنت أزرق عند قمة طبقة الـ florisil تحت لمبة UV بطول موجة عالية الشدة (365 nm) ، ويتم ذلك فى ساعة واحدة من بداية الاستخلاص وحدود الاكتشاف 5 ug/kg.

فى عام 1981 تم عمل plastic mini column مستعملا شريط بولى ايثيلين شفاف (ليس به أى مواد فلوريسنت الخواص تحت الـ UV.) بدلا من العمود الزجاجى وقطر العمود البلاستيك 6mm وبطول 25 cm. يعبأ العمود بنفس المواد وتستخدم كبريتات الكالسيوم اللامانيه لامتصاص الرطوبة وآثار الماء. المحلول المرسب precipitating solution هو مخلوط من خلات الزنك وكبريتات الأمونيوم المشبعة والذى سيزيد خواص الترسيب لتقليل المواد المتداخلة فى الاستخلاص. يستعمل كلوريد الصوديوم المشبع كمذيب ترسيب الذى يؤدى الى ترسيب المواد الأعلى حامضيه، بينما يتم استخلاص الأفلاتوكسين بسهولة أكثر .

هذه الطريقة يمكن أن تتم خلال 15 دقيقة وحد الاكتشاف أقل من 10 ppb، ويمكن استعمال المستخلص النهائى من هذه الطريقة فى الـ TLC. يجب طحن العينات الصلبة مثل الحبوب أو مواد الطعام بصورة شديدة مع الخلط الجيد.

الأجهزة : Apparatus :

- 1 – High speed blender
- 2 – UV light: long wave UV with intensity of 430 watt / cm² at 365 nm
- 3 – Plastic mini column: clear polyethylene straw (non – fluorescent materials) 6 mm in diameter and 25 cm in length.
- 4 – Glassware: beakers, cylinders (25, 50, 100 ml), funnel (75 mm), filter paper (whatman No.1), test tubes 1.5×15 cm, pipette Pasteur or graduated pipette (5 ml), glass rod (15 – 17 cm).
- 5 – Reagents :
 - a. Organic solvents (methanol, acetone, chloroform, benzene, isopropanol; analytical grade)
 - b. Extracting solvents: methanol KCl, 4% or NaCl, 5% [60 : 40]; Burning alcohol + 1% salt solution [60 + 40]
 - c. Precipitating solution:
 - 1- Zinc acetate solution (dissolve 125 gm Zn(OAc)₂ and 62.5 gm (NH₄) SO₄ in distilled water , add 1ml glacial acetic acid , add water up to 1000 ml.
 - 2- H₃PO₄(0.1 M) : dissolve 5.6 ml H₃PO₄ (specific gravity 1.75) in distilled water , make up to 1000 ml .
 - d. Diatomaceous earth : Celite 545.
 - e. Eluting solution: Chloroform: acetone (90: 10)
 - f. Packing materials:
 - 1- Alumina neutral
 - 2- Calcium sulphate anhydrous fine

- 3- Florisil (60 – 100 mesh)
- 4- Silica gel 60
- 5- Anhydrous sodium sulphate
- 6- Defatted cotton wool

The packing materials No.1,2,3 should be dried at 110°C for 1 – 2 hours twice a week and stored in a desiccators over silica – gel.

تجهيز العمود : Column preparation

توضع سداده صغيرة من صوف القطن cotton wool في قاع العمود ثم تضاف المواد المألثة: كبريتات كالسيوم لأمانيه (بطول 100 mm)، فلورسيل (10 mm)، سيلكا جيل (10 mm)، ألومينا متعادلة (15 mm) وكبريتات صوديوم لأمانيه (10 mm). ينقر على العمود بين إضافة المواد للتأكد من التعبئة الجيدة ، يسد العمود بلمبة كحولية alcohol lamp

تنقية المستخلص: Purification of the extract

- 1 - يوضع 50 gm من العينة المجهزة في ورق مخروطي، يضاف لها 200 ml من مذيب الاستخلاص، ترج مكونات الدورق جيداً بواسطة shaker لمدة 30 دقيقة أو يمزج جيداً بواسطة خلاط سريع لمدة 3 دقائق.
- 2 – ترشح المكونات من خلال ورق ترشيح الى مخبار مدرج.
- 3 – تنقل 40 ml من المترشح الى كأس 250 ml ، يضاف 50 ml من محلول خلات الزنك وتقلب وتخلط جيداً وتترك لمدة دقيقة واحدة، ثم يضاف 40 ml من محلول (0.1 M) H_3PO_4 يقلب ويمزج جيداً ويترك ثابتاً لمدة 5 دقائق.
- 4 – يرشح المخلوط من خلال ورق ترشيح الى مخبار مدرج.

5 - ينقل 50 ml من المترشح الى قمع فصل، ويضاف 4 ml بنزين ثم يحكم الغطاء الزجاجي ويرج بشده لمدة دقيقة واحده، يترك حتى يتم فصل المحلول. يجمع طبقة البنزين العلوية وتهمل الطبقة السفلى. يستعمل 1-2 gm من كبريتات صوديوم لامائيہ لتخفيف أو ترويق المستحلب في محلول البنزين.

العمود الكروماتوجرافي بواسطة الـ mini column :
طريقة التقييم باستخدام الـ mini column تصنف على أنها طريقة شبه كميہ semi - quantitative method تستعمل في اختبار المواد الغذائية لمحتواها من الأفلاتوكسين، وهذا مفيد جداً في فحص وتصنيف المواد الغذائية. تتم الطريقة كالاتي :

* تفتح نهايتي العمود ويمسك بماسك، يوضع أنبوبة اختبار تحت العمود لتجميع المزاج، يضاف 1 ml من المستخلص البنزيني النهائي الى العمود، يترك المذيب ينزل على سطح الطبقة الماصة، يضاف محلول الإزاحة 4 مرات بمعدل 1 ml كل مرة. يجب أن ينزل كل المذيب الى أنبوبة الاختبار، لإسراع السريان تستعمل مضخة مطاطية بضغط خفيف.

* يفحص الـ mini column في الظلام تحت ضوء UV (365 um) ، يتم مقارنة النتائج بالعمود القياسي عند تركيزات 20, 50 and 100 ppb. اذا تم اكتشاف شريط فلوريسنت أخضر مزرق على ارتفاع مناسب فإن العينة تعتبر موجبة لوجود الأفلاتوكسين، والشدة العالية تعبر عن تركيز عالي من الأفلاتوكسين. التقدير الجيد بواسطة هذه الطريقة يعتمد على العوامل التالية :

- ١- مهارة القائم بالتحليل.
- ٢- شدة ضوء الـ UV .
- ٣- ظلام المكان المستعمل في إظهار الـ chromatogram
- عندما يظهر عمود العينة شدة عالية عند مقارنته بالـ standard 20 ppb mini column فهذا يعني أن العينة بها أفلاتوكسين أعلى من 4 ppb ولكن أقل من 20 ppb.

- إذا كانت عينة العمود لها شدة أعلى من 20 ppb القياسية ولكنها أقل من 100 ppb للعمود القياسي فإن العينة تحتوى تركيز أفلاتوكسين ما بين 20 – 100 ppb
- عندما تكون عينة العمود لها شدة أعلى من 100 ppb القياسي فإن العينة تحتوى أفلاتوكسين بتركيز أعلى من 100 ppb، تركيز أفلاتوكسين فى هذه العينة يمكن تقديره بواسطة تخفيف المستخلص النهائى (1 ml من المستخلص يزاح بواسطة 4 ml مذيب إزاحة فى عمود آخر) ويقارن ثانياً بالـ 100 ppb القياسي . إذا كان العمود المخفف له نفس الشدة مثل 100 ppb القياسي فإن العينة تحتوى أفلاتوكسين يصل 500 ppb .

العوامل المؤثرة على تحليل الأفلاتوكسين بـ TLC :

Factors affecting the TLC of aflatoxins analysis:

توجد الأفلاتوكسين فى الطعام ومواده كنتيجة لنمو العفن الفطرى، وفى المنتجات مثل اللبن واللحوم والبيض كنتيجة لتناول الحيوانات غذاءً مصاب بالعفن الفطرى. الأفلاتوكسين هى مسببات سرطانية قوية، مكافحتها أو التحكم فيها يلزمه طريقة كمية للتحليل والتي تكون حساسة لتركيزات ميكروجرام أو بيكوجرام لكل كيلوجرام من الطعام أو مواده.

أول طريقة لتحليل الأفلاتوكسين تم نشرها عام 1964، وتعتبر الـ TLC طريقة للكشف والتقدير الكمي للأفلاتوكسين عند مستويات منخفضة، حالياً الطرق تعتمد على:

Higher performance liquid chromatography (HPLC),

Enzyme link aged immune sorbent assay (ELISA),

Radioimmunoassay (RIA).

تحليل الأفلاتوكسين بواسطة TLC مناسب جداً حيث أن معظم المركبات لها خواص فلوريسنت بقوة تحت ضوء UV طويل الموجه، بقعة 5 ng يمكن اكتشافها بمجرد النظر أو بالجهاز، وطريقة TLC تصلح لكل من التنقية والتقدير الكمي. عموماً قبل

تحليل بالـ TLC يتم استخلاص الأفلاتوكسين من العينة بواسطة أى مذيب عضوى مائى، تنقية المستخلص فى البداية بواسطة أحد الطرق مثل التوزيع بين المذيبات solvent partition، الترسيب بالمعادن الثقيلة، العمود الكروماتوجرافى أو عمود الترشيح . يوجد كثير من العوامل تؤثر على الفصل والتقدير الكمى بواسطة الـ TLC.

1. TLC plates

تستعمل سليكا جيل على وجه الحصر لتحليل الأفلاتوكسين بواسطة TLC، وتستعمل سليكا جيل لفصل الأفلاتوكسين الأربعة الرئيسية G_1 , G_2 , B_1 , B_2 عن بعضها الآخر وعن المواد المتداخلة معها ، ويتم هذا الفصل بواسطة سليكا جيل مع استخدام acetone / chloroform كصورة متحركة mobile phase. تختلف أنواع سليكا جيل فى إبقائها للأفلاتوكسين، فمثلا فى حالة استعمال إيثير الإيثايل كمظهر فإن الهجرة قد لا تحدث على بعض أنواع سليكا جيل ولكن تحدث على أنواع أخرى. سليكا جيل قد تكون طبقة رقيقة على الزجاج أو الألومنيوم أو البلاستيك، فائدة الألومنيوم أو البلاستيك أنه يمكن قطعها إما قبل أو بعد الفصل الكروماتوجرافى بعد ظهور أو استخلاص الـ spots للتحليل أو التنقية . يكون اللوح الزجاجى بسبك 0.5 cm وطول 20 × 20 cm وذلك ليكون قادراً على التداول والتنظيف والتسخين مع إعادة الاستعمال. يجب تنظيف الزجاج ليكون خالياً من متبقيات القلويات المستخدمة كجواهر للتنظيف والتي يمكن أن تلتصق بالزجاج وتؤدي الى تحطيم الأفلاتوكسين، ويتم إزالة متبقيات القلويات جيداً بواسطة الشطف بواسطة حامض معدنى مخفف والماء. تم تحسين ألواح TLC لتكون منتظمة السمك والصلابة لتستعمل لفصل الأنواع الأربعة من الأفلاتوكسين G_1 , G_2 , B_1 , B_2 بطريقة جيدة . عموماً فإن ألواح TLC المحضرة يدوياً أو المجهزة صناعياً يتم تنشيطها عند 80-100 °C لمدة ساعة ، وتخزن فى مجفف لتفادى التلوث بالرطوبة الجوية والملوثات مثل الأحماض على وجه الخصوص .

2. المواد القياسية المرجعية : Reference standard

يمكن الحصول على الأفلاتوكسين القياسية من عدة مصادر، يجب تحضير المحلول القياسي بنفس المذيب المستعمل في استخلاص العينة مثل acetone: benzene بنسبة (98 : 2). تعرض الأفلاتوكسين لضوء UV في صورة مادة صلبة أو محلول في نفس المذيبات مثل البنزين، كلوروفورم، إيثانول، ميثانول أو الماء. يجب حفظ المحاليل القياسية في الظلام وعلى درجة حرارة منخفضة في حالة عدم الاستعمال .

3. Spotting of the TLC plate

يذاب المستخلص بكميات مناسبة للتطبيق تكون مكافئة لـ 0.01 gm من العينة الأصلية المتوقع أن تحتوي 5 - 100 ug / kg من أفلاتوكسين B₁، ومن مستخلص مكافئ لعينة 5 gm للنواتج مثل اللحوم، اللبن، البيض ومتوقع أن تحتوي على أقل تركيز ما بين 0.02 - 10 ug / kg من أفلاتوكسين B₁ or M₁. تستعمل محقنة بالميكروميتر، ويتم تطبيق 1 - 50 ul solution /spot والتي أصبحت عملية قياسية للأفلاتوكسين. التطبيق بمعدل أقل من 1 ul بدون استخدام جهاز خاص يسبب أخطاء كبيرة، أما استعمال أحجام كبيرة قد إلى أن يريق أو ينشر البقعة ويزيد من فرصة فساد سليكا جيل. يجب تطبيق العينة بسرعة تحت ضوء خافت بدون تلف السطح وفي جو رطوبة نسبية أقل من 60%، ولكن عند الرطوبة الأعلى فإن سليكا جيل يمكن حمايتها كالاتي :

- أ (تدفئة الألواح أثناء الإضافة spotting .
 - ب) تغطية سليكا جيل بلوح زجاجي نظيف .
 - ج) الإضافة spotting تحت غاز خامل في spotting chamber .
 - د (الإضافة spotting على الألواح بعد موازنتها بمذيب ما .
- عموما التحكم في الرطوبة مهم جداً، حيث أن الرطوبة العالية جداً تؤدي إلى ظهور ضعيف وبطيء. التحكم في الرطوبة يقلل فرصة تلوث الألواح حتى لا يحدث تلاشي للأفلاتوكسين. يتم التقدير الكمي للأفلاتوكسين بواسطة التقدير المرئي لدفعات من المحلول القياسي (1 , 2 , 3 and 5 ul) بتركيزات 1, 1, 0.2, 0.2 ug / ul على

التوالى من B_1 , G_1 , B_2 and G_2 . يتم تطبيق نفس الأحجام من محلول المستخلص مع تركيز الأفلاتوكسين فى المستخلص تقريبا بالنسبة للقياسى منها، بمعنى تقدير كمية الأفلاتوكسين فى المستخلص بواسطة التطابق المرئى لشدة ضوء الفلوريسنت فى عينة المستخلص مع القياسية.

٤- Development of the chromatogram

إختيار المذيبات أو مخلوط المذيبات قد يكون على مدى واسع من الإختيار للأفلاتوكسينات الفردية والمكونات المتداخلة فى المستخلص لتحسين نتائج التحاليل. فمثلا مخلوط acetone / chloroform المتعادل يستخدم لاختبار كفاءة سيليكا جيل، والمظهرات developers الحامضية مثل benzene – acetic acid – methanol تعطى ثبات إظهار resolution ممتاز للأفلاتوكسينات B_1 , B_2 , G_1 and G_2 كل من الآخر ومن كل المواد المتداخلة الأخرى فى المستخلص ومن المواد الحامضية. بعض المواد الأخرى تتحرك الى أعلى R_f نسبيا للأفلاتوكسين عنه مع acetone/chloroform. ومن أمثلة المظهرات التى يحدث فيها الفصل بواسطة التوزيع partition هى:

benzene – ethanol – water & ether – methanol – water
المحتوى الرطوبى لسيليكا جيل له تأثير أقل مع المذيبات المائية عنه مع مخلوط المذيبات بدون ماء .

٥- التقدير الكمي : Quantitation

تقدير الأفلاتوكسين مرئياً أو بواسطة مقياس الكثافة يتم بواسطة قياس شدة ضوء الفلوريسنت لبقعه الأفلاتوكسين وهى الطريقة العملية الأكثر استعمالاً. التقدير المرئى يتم باستخدام طريقتان:

الأولى: عمل سلسلة تخفيف من المستخلصات المجهولة والقياسية للنقطة التى عندها ضوء الفلوريسنت يكون غير قابل للاكتشاف (حوالى 0.1-0.5ng للأفلاتوكسين B or G). نقطة الانقراض (الإخماد) تعتمد على شدة ضوء UV ، سيليكا جيل والمذيب المتبقى فى سيليكا جيل بالإضافة الى البقع المندمجة وكمية ونوع المواد المتداخلة فى المستخلص وظلمة الحجره والدقة المرئيه للملاحظ.

الثانيه: التقدير المرئي يشمل مقارنه شدة الفلوريسنت لبقع المستخلص مع بقع الأفلاتوكسين القياسية. إذا كانت شدة البقعة المجهولة بين بقعتي المادة القياسية، فإنها تقع كنصف الفرق في حجم أو كميات البقعتين فمثلا 2.5 إذا كانت بين 2 and 3 ng. إذا وقعت العينة خارج مدى العينات القياسية فإنه يجب تخفيفها أو تركيزها ثم يعاد الكروماتوجرام.

تطبيق المستخلصات على ألواح TLC :

Application of Extracts onto TLC plates:

يتم تطبيق المحاليل على الـ Chromatoplate مستعملا micro-pipettes والتي يجب تغييرها بعد كل إضافة لكل محلول وتكون الـ spots الناتجة صغيرة بقدر الإمكان (بقطر أقل من 5mm).

الكروماتوجرافي أحادي البعد :

Uni-dimensional Chromatograph:

* إظهار الألواح : Development of plates

يظهر اللوح بواسطة إيقافها ثابتة في إناء الكروماتوجرافي المحتوي على المذيب المناسب بعمق ليس أكثر من 1/2 cm . في حالة بعض نظم المذيبات فإن إناء الكروماتوجرافي يجب تركه وقتاً قصيراً للتوازن قبل إظهار الألواح. وقت الإظهار يكون 20 دقيقة تقريباً معتمداً على الظروف المحيطة (سطح المذيب solvent front تكون على بعد 10 cm على الأقل من خط الأساس). يتم فحص اللوح الجاف والذي تم إظهاره تحت الـ UV بطول موجة طويل 365 nm، ويفضل أن يكون في مكان مغلق محاط بمرشح قوى .

** الكشف والتقدير : Detection and Estimation

(١) طريقة المقارنة مع القياسى :

Comparison of standards technique :

يقارن شدة الضوء الفلوريست للـ spots عند R_f للـ B_1 فى العينة مع B_1 للـ spots ، يتم تعيين أى من الـ spots للعينة تتوافق مع أحد من القياسية ويسجل الأحجام المقابلة . إذا كانت شدة بقعة العينة تقع بين تقع بين بقعتان متجاورتان من المادة القياسية فيسجل متوسط حجم السائل للبقع القياسية . إذا كانت البقع الأصغر حجما من العينة لدرجة أن شدتها لا يمكن توافقها مع المادة القياسية ، فيجب تخفيف مستخلص العينة وإعادة الكروماتوجراف .

• يتم حساب تركيز الأفلاتوكسين B_1 (ug / kg) فى العينة من المعدلة التالية :

$$\text{Aflatoxin B content (ug/kg)} = \frac{S \times Y \times V}{W \times Z}$$

S = حجم (ul) أفلاتوكسين B القياسى المكافىء لشدة الحجم Z (ul)

Y = تركيز أفلاتوكسين B_1 القياسى (ug / ml)

Z = حجم (ul) من مستخلص العينة اللازم ليعطى شدة

فلوريست مقارنة لحجم S (ul) لـ B القياسى .

V = حجم (ul) من المذيب اللازم لتخفيف المستخلص النهائى .

W = الوزن (gm) فى العينة الأصلية فى المستخلص النهائى .

يلاحظ من الـ TLC plate أن :

$$S \text{ (ul) standard} = Z \text{ (ul) sample}$$

وزن الأفلاتوكسين فى العينة Z (ul) = وزن الأفلاتوكسين القياسى S (ul)

ويمكن حساب وزن الأفلاتوكسين فى البقع القياسية S (ul) كالتى :

$$\text{Conc. of standard} = Y \text{ (ug / ml)} = Y/1000 \text{ ug / ul}$$

$$\text{Weight of aflatoxin in S ul} = \frac{Y \times S}{1000} \text{ ug}$$

أما وزن الأفلاتوكسين في بقع العينة (Z (ul :

$$\text{Weight of aflatoxin in Z ul} = \frac{Y \times Z}{1000} \text{ ug}$$

وعلى ذلك فإن حجم (V (ul من المستخلص النهائي يحتوى على $\frac{Y \times S \times V}{1000 Z} \text{ ug}$

وهذا يكون وزن أفلاتوكسين النهائي الفعال (W) من مادة البدايه .

$$\frac{Y \times S \times V}{1000 Z W} = \text{وبالتالى وزن أفلاتوكسين فى 1gm من المادة الأولية}$$

$$\text{ووزن أفلاتوكسين فى 1kg من العينة الأولية} = \frac{Y \times S \times V}{Z \times W} \text{ ug/kg(ppb)}$$

مثال مستعملا طريقة الطريقة القياسية :

20 gm من ground nuts، تم إزالة الدهون منها لى تعطى 10 gm والى استخلصت بـ 100 ml كلوروفورم، 10 ml ماء. يرشح المستخلص ويجفف منه 50 ml حتى 1/2 ml، ثم يتم تطبيق المحلول بأحجام 2, 5 and 10 ul من هذا المحلول وتطبق على الـ chromatoplate مع 2, 5 and 10 ul من محلول B₁ القياسى. بعد الإظهار وفحص الـ chromatoplate تحت ضوء UV تبين أن البقعة 5 ul من المستخلص كانت مساوية لشدة 2ul من المادة القياسية.

$$S = 2 \text{ ul}, Y = 0.66 \text{ ug / ml}, V = 0.5 \text{ ml or } 500 \text{ ul}, Z = 5 \text{ ul}, W = 9.18 \text{ gm}$$

$$\text{Weight} = \frac{Y \times S \times V}{Z \times W} \text{ ug/kg(ppb)} = \frac{0.66 \times 2 \times 500}{5 \times 9.18} = 14.38 \text{ ppb}$$

ب) طريقة التخفيف حتى نقطة النهاية :

b) Dilution – to – extinction technique:

يتم البحث عن الضوء الفلوريسنت الأزرق تحت ضوء UV (365nm) فى العينة عند R_f مقابل للأفلاتوكسين B (كلا من B₁, B₂) فى المرجع الأساسى. الهدف من هذه الطريقة هو عمل تخفيف للمستخلص مثل 15, 20 ul تطبق على TLC plate لى

تعطى ضوء فلوريستنت للأفلاتوكسين B يكون مرئياً. وإذا ظهر لون فلوريستنتى أزرق على الكروماتوجرام فى جميع التخفيفات فإن المستخلص يخفف بدرجة كافية لإعطاء فوق نقطة النهاية extinction point. المحاولة والخطأ والخبرة تكون قادرة على تصحيح التخفيف لكى يمكن تقدير نقطة النهاية. والظروف المستعملة لهذه الطريقة تكون قياسية:

- ١- يغطى اللوح باليد hand coated.
 - ٢- سمك اللوح = 0.5 mm
 - ٣- يتم إل plate الى مسافة 10 cm بين سطح المذيب وخط الأساس base line
 - ٤- يوضع إل plate على مسافة ثابتة (30 cm من لمبة إل UV)
 - ٥- قوة لمبة إل UV حوالى 125 وات.
- تحت هذه الظروف فإن أقل وزن لأفلاتوكسين B يعطى فلوريستنت مرئياً تماماً يكون (0.0004 ug) 0.4 ng بينما لأفلاتوكسين G يكون الوزن (0.0003 ug) 0.3 ng ويمكن حساب محتوى الأفلاتوكسين كما يلى :

$$\text{Alfatoxin B} = \frac{0.4 \times D}{W \times V} \text{ ug/gm(ppm) or } \frac{0.4 \times D}{W \times V} \times 1000 \text{ ug/gm(ppb)}$$

and

$$\text{Alfatoxin G} = \frac{0.3 \times D}{W \times V} \text{ ug/gm (ppm) or } \frac{0.3 \times D}{W \times V} \times 1000 \text{ ug/kg (ppb)}$$

D = الحجم الكلى (ml) اللازم لتخفيف المستخلص حتى يكون الفلوريستنت مرئياً تماماً فى حجم (V ul) من عينة المستخلص.

V = حجم الدفعة من العينة والذى عندها يلاحظ الفلوريستنت على الكروماتوجرام المظهر .

W = وزن العينة الأساسية (gm) الموجودة فى المستخلص .

على وجه العموم يمكن تلخيص طرق الكشف عن السموم الفطرية والتقدير كالاتى :

1 – Thin – Layer Chromatography (TLC)

هذه الطريقة تقليدية وعامة لتحليل السموم الفطرية بسبب أنها تحلل عدد كبير من العينات في وقت زمني قصير، مع العلم أنه يوجد كثير من المراجع والأبحاث العلمية على تطبيق TLC لتحليل السموم الفطرية، وطبقة سليكا جيل هي الأكثر استعمالاً للـ TLC. تستعمل TLC لكل من الأغراض الكمية وشبه الكمية للسموم الفطرية لقلّة تكاليف العمل وسهولة التعرف على المركبات المستهدفة بواسطة التحليل الضوئي بالـ UV.

2 – High Performance Liquid Chromatography (HPLC) :

التحليل الحديث للسموم الفطرية يعتمد أساساً على HPLC مستخدماً مواد مدمصة adsorbents مختلفة معتمدة على التركيب الكيميائي للسموم الفطرية. وعلى أساس القطبية فإن الفصل والتنقية يتم باستعمال normal and reversed – phase columns، فمثلاً AFT toxins, ochratoxine A (OTA) لها بالفعل فلورسينتي طبيعي ويمكن اكتشافها مباشرة بواسطة HPLC – Flame Ionization Detector (HPLC – FID).

3 – Gas Chromatography (GC)

يستعمل GC بطريقة منتظمة لتحليل عينات الطعام. ويستعمل كل من:

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) or
Flame Ionization Detector (FID)

للكشف عن النواتج المتطايرة، ويمكن التقدير المباشر للمركب OTA بواسطة الـ GC بسبب أنه مركب غير متطاير .

4 – Capillary Electrophoresis (CE)

الاكتشاف الفردي للمواد السامة المتقاربة يلزمه طريقة فصل دقيقة. الفصل المباشر الفعال للمكونات قد يعتمد على الهجرة المعتمدة على

الشحنة والكتلة فى أى مجال كهربي. ال Buffer solutions تحتاج
فصل سريع فى ال Capillary electrophoresis

5 – Mass Spectroscopy (MS)

يفضل لجميع السموم الفطرية استعمال الطريقة المعتمدة على MS
بسبب التخصص العالى .

6 – Ambient Ionization Mass Spectroscopy

طريقة حديثة تم تطويرها والتي تسمح بحدوث التأين عند الضغط
المحيط وخارج جهاز ال mass spectrophotometer
يوجد جهازين من الناحية التجارية تم تطويرها تعتمد على طرق
مختلفة (DESI) Desorption Electro – Spray Ionization
والتحليل مباشر فى زمن حقيقى .

7 – Electrochemical Immunoassays (EIIS)

تستخدم ال EIISA التقدير اللوني والفلوروميترى colorimetric or
fluorimetric endpoint، ويمكن أيضا استعمال مواد تفاعل
substrates مع النواتج التي يمكن قياسها electrochemically.
فائدة ال Electrochemical assays تشمل تكاليف منخفضة
للإلكترونيات، ووجد تطبيق الكترود معتمد على ال sensor لكل من
AFM1 فى اللبن، AFB1 فى الشعير. وسنابل الأرز، OAT فى
القمح.

8 – Lateral Flow Immunochromatography

يتم تطبيق عينة من المستخلص المحتوية السم الفطرى على شريط
والتي تهجر بطوله وترتبط مع المعقد المضاد للسم الفطرى.
الجزيئات المحتوية السم الفطرى وغير المحتوية تهجر الى خط
الاختبار، السم الفطرى غير المتحرك يمسك فقط الجزيئات الحرة
free particles والتي تكون خط ملون مرئى بينما الجزيئات
المحتوية السم الفطرى تستمر فى الهجرة. فى وجود السم الفطرى فى
العينة عند تركيز أعلى من نقطة عدم الاستمرار فى الشريط (وهى
تشبع الجزيئات بالسم الفطرى) فإن الجزيئات المحتوية السم الفطرى

سوف تفشل في الارتباط بخط الارتباط، والعكس بالعكس. شدة اللون في خط الاختبار تتناسب طردياً تركيز السم الفطري.

Bioluminescent whole – cell Biosensors – 9

أحد طرق الكشف وتقدير متبقيات estrogenic mycotoxins في اللبن ومنتجاته وذلك مثل تقدير zearalenone mycotoxins والميتابوليت الخاص به مثل :

α and β – zearalanol , α and β – zearalanone ,
من ناحية أخرى فإن Piezoelectric immune sensors هو أحد الطرق البسيطة والسريعة وعالية الحساسية للكشف عن وتقدير AFB1 .

الباب الثامن

علاقة الإصابة الحشرية بالتلوث الفطري

Insects infection and Molds

الباب الثامن

علاقة الإصابة الحشرية بالتلوث الفطري

Insects infection and Molds

توجد دراسات على الذرة فى المخازن فيما يتعلق بالإصابة الفطرية بالفطر *A. flatus* والتلوث بالأفلاتوكسين وخشرات الحبوب المخزونة، فالإصابة الحشرية والإصابة الفطرية بـ *A. flatus* لهما علاقة قوية بالكثافات العالية من سوسة الحبوب weevils حية أو ميتة وبعض الأنواع الثانوية الأخرى. عندما يكون عدد حشرة السوس عالياً فإن التدخين يؤدي إلى إنتاج حشرات ميتة كثيرة العدد والتي يتكاثر عليها الفطر *A. flavus* منتجاً كميات كبيرة من اللقاح الخاص بالفطر.

على أى الأحوال يجب العمل على تقليل الفاقد ما بعد الحصاد فى الحبوب المخزونة وبحث العوامل الحشرية المؤثرة على تلف الحبوب وعلاقتها بانتشار الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين، ودور الآفات فى الحقل والمخازن التى تؤدي إلى توفير الظروف التى تشجع نمو وتكاثر الفطر أثناء التخزين، كذلك فإن الظروف المناخية فى مناطق نمو الذرة لها صلة بكل من نمو الفطر وزيادة تعداد حشرات الحبوب المخزونة، وبسبب مشاكل التلوث بالأفلاتوكسين والإصابة الحشرية فإن المحاصيل قد تواجه بخفض أسعارها، ورفضها فى الموانئ عند التصدير والاستيراد، ويرجع التأثير الثلاثى للفقد إلى الحشرات، الفطريات، السموم الفطرية التى تدمر وتفسد الحبوب.

الحشرات والمفصليات تلعب دوراً هاماً كعوامل للفطريات المنتجة للسموم الفطرية، حيث أن الإصابة الحقلية للذرة قبل الحصاد تكون مصحوبة بدرجة كبيرة بالإصابة بالفطر *A. flavus* ودرجة التلوث بالأفلاتوكسين. العلاقة الرئيسيه مع الآفات الحقلية مثل ناخرات الذرة الأوروبية European corn borer والقاذرة على الضرر بقوالب الذرة وتلف الحبوب تؤدي إلى الإصابة بفطر *A. flavus* من أى مصدر للعدوى مما يؤدي إلى حمل جراثيم الفطر إلى سنابل القمح أو كيزان الذرة. من ناحية أخرى فإن الدور الرئيسى لسوسة الذرة فى

العدوى بالفطر وما يتبعه من التلوث بالأفلاتوكسين يحدث أساساً أثناء التخزين، والتعداد الكبير من السوس قد يغير الظروف في الحبوب المعبأة لكي تشجع نمو الفطريات في الحبوب المخزونة. السبب الرئيسي لنمو الفطر وإنتاج الأفلاتوكسين يكون واضحاً في الذرة عالية الرطوبة عند الحصاد، وعلى ذلك فإن الحاجة لتجفيف الحبوب مهمة جداً ويجب تشجيع التجفيف بعد الحصاد عند مستوى الحقل .

لوحظ أن عدم فحص أو متابعة تعداد سوسة الذرة قد يؤدي إلى نمو جراثيم *A. flavus* بكميات كبيرة تساعد على العدوى، كلما زاد التعداد فإن السوس يهاجر إلى مناطق أخرى مثل حبوب ذرة أخرى تنقل للمخازن ، وحتى إذا كان هذا الذرة جافاً (15% محتوى رطوبي) فإن تواجد السوس يمكن أن يغير الظروف داخل الحبوب المعبأة بواسطة زيادة درجة الحرارة والرطوبة خلال نشاط الميثابوليت حتى يصل إلى حد نمو *A. flavus* ، وهذا قد يفسر أن العبوات المخزنة بطريقة جيدة قد تصبح مصابة بدرجة كبيرة بفطريات المخازن خلال فترة قصيرة.

عموماً عند 15% رطوبة فإن حبوب الذرة تعتبر جافة وقابلة للتخزين وهذا في الحقيقة الحد الأدنى لنمو فطريات المخازن ولكن الإصابة بسوسة الحبوب يمكن أن تغير الظروف وترفع المحتوى الرطوبي وتسبب تلفاً بدرجة أكبر من المتوقع، وضرر الحبوب بواسطة تغذية السوس يعتبر الجانب الأولي للنمو الفطري. وعلى ذلك فإن تخزين الذرة 15% رطوبه يكون آمناً لفترة طويلة ما لم يوجد عوامل أخرى تعمل على تغيير نوعية الحبوب. ويمكن القول أن حشرات الحبوب المخزونة الأخرى بالإضافة إلى سوسة حبوب الذرة قد تساعد على توزيع جراثيم الفطر *A. flavus* في حبوب الذرة .

على أي الأحوال، عند محتوى رطوبي آمن أو أكثر يكون الذرة عرضة للهجوم بسوسة الذرة مع زيادة سريعة تالية في كل من عدد السوس، ومحتوى الرطوبة، درجة الحرارة، فطريات المخازن والحشرات الثانوية. ومن الضروري مكافحة آفات المخازن لخفض لفقد في الحبوب المخزونة والحفاظ على نوعيتها وصفاتها الحيوية، وقد يتم ذلك عن طريق تدخين العبوات أو أكوام الحبوب المصابة بدرجة قوية والذي قد تهاجم المجموع الحشري لحظياً، ولكن يتم

بالفعل ضرراً كبيراً، حيث أن الحبوب تم تلفها بواسطة الحشرات التي أحدثت فتحات للمهاجمة الفطرية، مع ملاحظة أن الفطريات الموجودة فعلاً داخل لب الحبوب أو القوالب لا تتأثر بواسطة التدخين. ويتم غزو الحشرات الميتة بواسطة الفطر *A. flavus* وينتج كميات كبيرة من العدوى.

المخازن التي تسمح للحشرات بتكوين أعداد كبيرة فقد تؤدي إلى مشاكل لها وللمزارع وأي معدات مخزنية في نفس المنطقة، والحشرات المهاجرة تصيب المحاصيل المجاورة، ولذلك يجب مكافحة المجموع الحشري والأعداد منخفضة. المخازن المصابة بدرجة عالية تعمل كملاذ أو ملجأ للحشرات في المبنى نفسه لدرجة أن العبوات قد تصاب مرة ثانية بسرعة بعد عملية مكافحة بالتدخين.

هناك موضوع هام هو الزراعة العضوية *organic agriculture* والتي تعرف بأنها زراعة المحاصيل بدون استخدام مبيدات فطرية أو حشرية وبالتالي تنتج منتجات طبيعية جيدة وصحية، وأدى ذلك إلى زيادة الطلب على الغذاء العضوي، وتكاليف هذا الغذاء عالية للإنتاج التجاري عن المحاصيل العادية. ولكن هناك حقيقة أن هذه الزراعة العضوية قد تصاب بالحشرات أو الفطريات إلى مدى كبير عن الزراعة العادية، والإصابة بالحشرات قد تؤدي في كثير من الأحوال إلى الإصابات الفطرية التي تنتج سموم فطرية *mycotoxins* وعلى ذلك يكون هذا الغذاء ملوثاً بمستويات عالية من السموم الفطرية. من المعروف أن ناخرات سيقان الذرة تحطم حبوب وكيزان الذرة وهذا التحطيم يكون مصحوباً بعفن الفيوزاريوم، ويعتبر فطر *Fusarium verticillioides* هو أحد الفطريات السائدة على البذور المصاحبة للذرة المستهلك بواسطة الإنسان والحيوان على مستوى العالم.

قياس (*Maximum Residue Concentration*) MRS أثبت أن مستويات السم الفطري *patulin* في عصير التفاح المصنوع من من تفاح نامى بالطريقة العادية يتراوح $250 - 4000 \mu\text{g} / \text{l}$ بينما المستوى في عصير التفاح النامى بالزراعة العضوية وصل $45000 \mu\text{g} / \text{l}$.

البيئة المناسبة لنمو الفطريات المنتجة للسموم الفطرية:
الظروف المؤدية لنمو الفطريات المنتجة للسموم الفطرية وتلوث
الطعام بالأفلاتوكسين والوسائل الأكثر فعالية لمكافحة ومنع هذا
التلوث لأى مواد غذائية عن طريق التحكم فى البيئة لمنع نمو العفن.
يوجد عدد من المقاييس البيئية مثل :

1. الغلاف الجوى : Atmosphere
كل أنواع العفن متطفلة هوائية ولا يمكن أن تنمو فى غياب
الإكسجين ولذلك لمنع التلوث الفطري لحبوب الذرة ، الفول
السودانى، والحبوب الصغيرة الأخرى ، يجب تخزينها تحت
ظروف لا هوائية وحتى فى وجود النيتروجين أو ثانى أكسيد
الكربون .

2. درجة الحرارة : Temprature
أحد الطرق الأخرى لمكافحة أو منع انتاج السموم الفطرية هو
درجة حرارة التخزين تكون 10°C أو أقل.

3. الرطوبة: Moisture
التحكم فى الرطوبة هو أحسن وسيلة اقتصادية لمنع نمو العفن
وإنتاج السموم الفطرية. وعلى ذلك فإنه يجب تجفيف الذرة على
أقل من 1.45% رطوبة لتجنب التلوث بالأفلاتوكسين وكذلك
بالنسبة للفول السودانى وبالنسبة للحبوب الصغيرة فإنه يلزم
محتوى رطوبى حوالى 13%.

- ومن هنا يمكن القول أن :
- نمو وتطور الحشرات ، القراد ، الفطريات ، السموم الفطرية
يمكن التحكم فيها بواسطة درجة الحرارة .
 - يمكن تربية معظم الحشرات بسرعة عند $25-33^{\circ}\text{C}$ ، ولا يمكن
ذلك تحت 15°C .
 - سوس الحبوب يمكن يتوالد ببطيء عند 12°C .
 - الحشرات لا يمكن أن تتغذى وتموت ببطيء عند أقل من 5°C .

- القراد والفطريات يمكن أن تزيد (ببطء جداً) تحت 5°C في الحبوب الرطبة.
- تكوين السموم الفطرية mycotoxins في معظم الأحوال بين $15 - 25^{\circ}\text{C}$.

التداخل بين الحشرات والسموم الفطرية:

Interaction between insects and mycotoxins

الحشرات تتلاقى مع السموم الفطرية عندما تستهلك الثمار المصابة بالفطريات والتواجد المشترك للحشرات التي تتغذى على الحشائش herbivorous insects يساعد على التطور والنمو البيئي. الفطريات يمكن أن تصيب الحشرات بإصابات تؤدي إلى أعراض مثل نقص التغذية تأخير النمو، تقليل نجاح التزاوج حتى الموت. الفطريات يمكن أن تتعايش مع الحشرات بواسطة التبادل المشترك الذي يؤدي إلى تحفيز الهضم والكفاءة.

وهذا النوع من التداخل ينتج من التلاقى بين الحشرات والفطريات المنتجة للسموم الفطرية.

الحشرات نفسها ليست عائل للفطريات المنتجة للسموم الفطرية ولكن كلا من الحشرات وهذه الفطريات تتشاركان نفس النبات العائل. الحشرات يمكن أن تخدم كناقل للفطريات المنتجة للسموم الفطرية وتسهيل الدخول الفطري لعائلها النباتية فالحشرات تأخذ فائدة من الفطريات لحمايتها ضد أعدائها الطبيعية ومعالجه مكونات النبات لزيادة القدرة على هضمها.

الحشرات مثل ثاقبات ساق الذرة *Elasmopalpus lignosellus*، دودة جذور الذرة *Diabrotica undecimpunctata howardi*، والنمل الأبيض *Microtermes spp.* وبعض الحيوانات غير الحشرية مثل القراد والنيماتودا تشارك إصابة الـ *Aspergillus* في النباتات.

بدرجه كبيره تلوث الذرة بالسموم الفطرية ولها كثير من العوائل (Lepidoptera, Noctuidae) *H.zea* دودة كيزان الذرة تسهل

النباتية ويوجد أكثر من 100 عائل نباتي مثل القطن والذرة تصاب بالفطريات *Aspergillus fungi*.

في حالة الذرة تبدأ اليرقات في البداية بالتغذية على الأجزاء الناعمة من الذرة ثم تحطم الحبوب والكيزان. الجروح أو القطع يسهل دخول الفطريات الى كوز الذرة.

ويوجد اعتقاد يوضح المشاركة القوية بين الإصابة الحشرية والتلوث بالسموم الفطرية. فمثلا المستويات العالية من أفلاتوكسين وجدت في الذرة المصاب بالحشرات عنه في غير المصاب، حبوب الذرة ذات الجدار السميك يكون بها مستويات منخفضة من الأفلاتوكسين والحبوب والكيزان التالفة ميكانيكيا تكون أكثر إصابة بواسطة الفطريات.

وتعتبر مكافحة الفعالة للحشرات أحد الطرق لتقليل تلوث المحاصيل بالسموم الفطرية. مكافحة *H.zea* بواسطة المبيدات الحشرية تؤدي إلى نقص التلوث بالافلاتوكسين في الذرة. مقاومة العائل النباتي للحشرات يعتبر طريق إقتصادي لتقليل التلوث بالافلاتوكسين. استعمال المحاصيل transgenic Bt المقاومة للحشرات تقلل كلا من التلف المباشر بواسطة تغذية الحشرات وتلوث المحاصيل بالافلاتوكسين وهذا الصنف من المحاصيل يمنع المهاجمة بالـ *H.zea* ويقلل التلوث بالسموم الفطرية.

ذبابة الفاكهة تهاجم الفاكهة المحفوظة مثل ثمار الموالح المصابة بفطريات *Aspergillus*، معاملة البيئة التجريبية بتركيز عالي من AFB1 (10ppm) سبب موت كل يرقات العمر الأول حديثه الفقس، ولقد لوحظ تأثير آخر على *Drosophila melanogaster* عند تركيز منخفض من AFB1 شاملة من البيض حتى حيوية الأفراد البالغة والخصوبة، وكان أقل تركيز 674 ppb الذي يفوق LD₅₀. ووجد أن AFB1 له سمية على يرقات حرشفية الأجنحة مثل *Heliothis virescens* حيث أن 10µg/g AFB1 تسبب موت بنسبة 100% خلال 8 أيام. فطريات *Aspergillus* التي تصيب الوجبات الغذائية قد تسبب موت أو تأخير نمو دودة الحرير *Bombyx mori*. وجد أيضاً أن 20 ng/g من AFB1 يسبب

موت يرقات العمر الأول حديثه الفقس للحشرة *H.zea* بينما يرقات العمر الخامس فان تركيز 200 ng/g من AFB1 يؤخر فقط التطور بدون حدوث موت عل معدل التعذر pupation rate او على وزن العذراء بينما $1 \mu\text{g} / \text{g}$ AFB1 يقلل الوزن العذرى بمعدل % 29.3 ويقلل معدل التعذر بمقدار أقل من الثلث، ولقد لوحظت تشوهات فى العذارى بعد يرقات العمر الخامس المعرضة لتركيز $1 \mu\text{g} / \text{g}$ AFB1 وفشل تطور النمو العذرى .

ميكانيكية إزالة سمية السموم الفطرية بواسطة الحشرات :

Detoxification mechanism of mycotoxins by insects:

بالرجوع الى حساسية النباتات للإصابة بالـ *Aspergillus* ويقابله تغذية الحشرات على هذه النباتات المصابة فقد أظهرت الحشرات ميكانيكية هامة لعمل metabolic detoxification تشمل صورتان : two phases

Phase I عن طريق إضافة مجاميع وظيفية فعالة الى الجزيء الأساسى والتي ترتبط بعد ذلك تبادلياً مع أجزاء قابلة للذوبان فى الماء مثل sulfate , glutathione glucuronic acid, وبذلك تتحول المادة السامة المحبة للذوبان فى الدهون lipophilic الى مادة محبة للذوبان فى الماء hydrophilic ويحدث لها إخراج .
ميتابوليت AFB1 الناتجه بواسطه يرقات دودة البرتقال أبوسرة تشمل أساساً AFL وكميات صغيره من AFM1 , AFB2. وجد أن AFB1 يتم تنشيطه حيويًا إلى مشتقات أكثر سمية بواسطة cytochrome P450s فى *H.Zea* .

عموماً فإن من الإنزيمات المسئولة عن التحولات الحيوية للأفلاتوكسين خلال الأنواع هو :
cytochrome P450 monooxygenases (P450s).

أكسدة AFB1 تؤدي إلى تكوين ميتابوليتات عديدة القطبية تشمل AFP1, AFB2a, AFQ1, AFM1 وكما هو معروف قبل ذلك فإن كل من أفلاتوكسين B2a, Q1, M1 هي نواتج إضافة هيدروكسيل hydroxylation على AFB1 ولها تأثير سام حاد منخفض ولها تأثير طفرى عن AFB1. أما AFP1 فهو ناتج إزالة مجموعة ميثايل على الإكسجين O-demethylation of AFB1 وهو الميتابوليت الرئيسى فى بول الـ rats, mice, monkeys التى تعرض لوجبات بها AFB1.

AFB1 يتم تنشيطه بواسطة P450s لتكوين AFBO الذى يمكن أن يتداخل مع DNA لتكوين ناتج اضافى N⁷ - guanyl يؤدي إلى تثبيط تخليق DNA أو يؤدي إلى بداية موقع الطفرات التى تنشط بـ protooncogenes ويثبط الجينات الموقفة للسرطان. والنواتج المنشطة يمكن أيضا أن ترتبط مع البروتينات بتأثير مباشر على الأنزيمات.

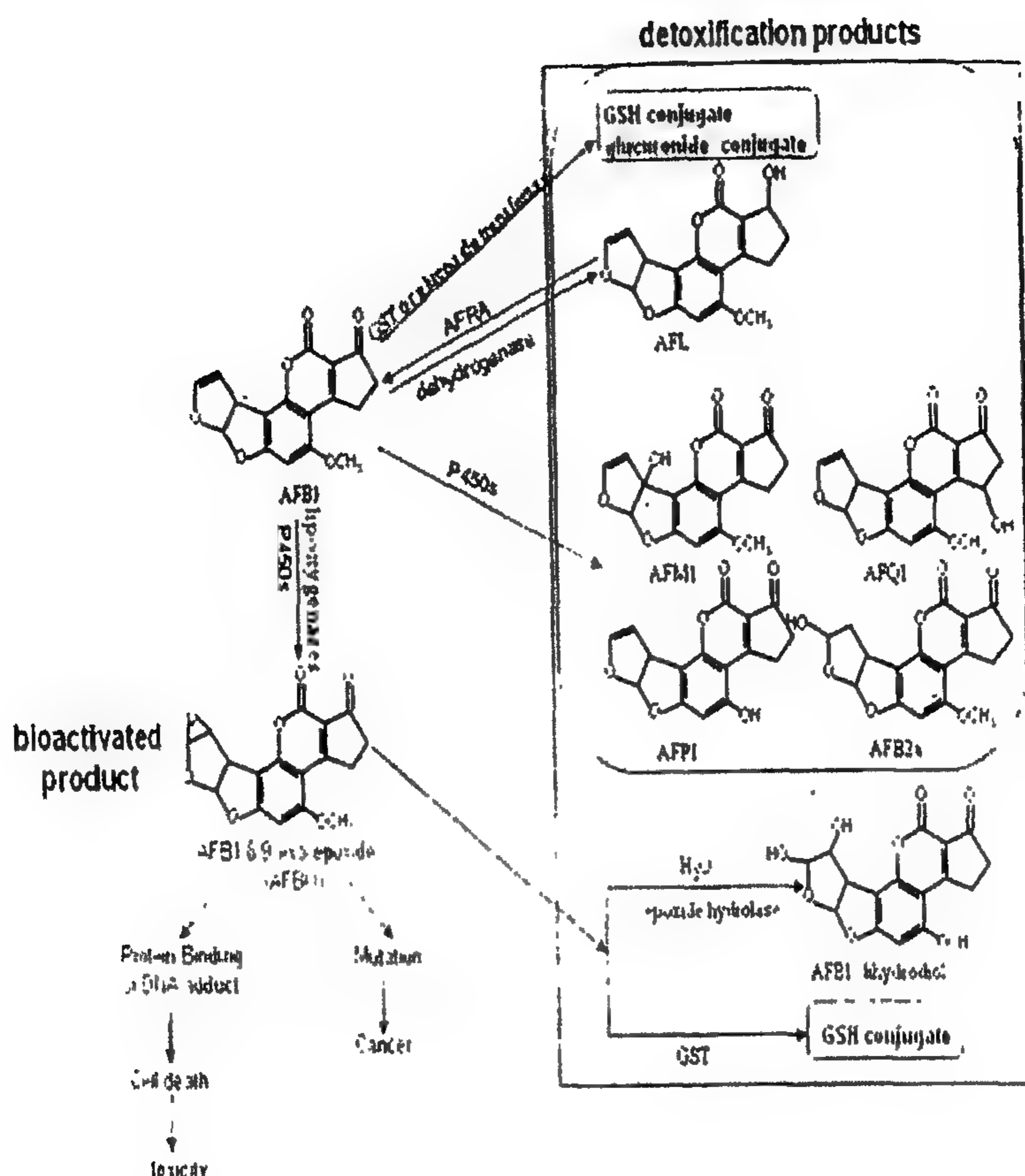


Fig. (7) Detoxification and bioactivities of aflatoxin B1. (Eaton and Gallagher, 1994)

Phase II: إنزيمات إزالة السمية مثل:

Glutathione S-transferase (GSTs), glucoside transferase and cytochrome reductase .

من الإنزيمات الهامة في إزالة سمية الأفلاتوكسين كما في الشكل السابق (شكل 7). GST يتوسط ارتباط AFBO مع GSH المختزل يكون هو الطريق لإزالة سمية AFB1 في كثير من الثدييات. GST يعمل بواسطة ارتباط الجلوتاثيون (GSH) مع مواد محبة للشحن السالبة لإنتاج ميتابوليت أكثر حبا للماء وقابلة للإخراج.

فى القوارض حساسية AFB1 مرتبطة عكسياً مع نشاط GST فى
الكبد ناحية ABFO.
وجد أن AFB1 قد يتحول إلى aflatoxinol (AFL) بواسطة إنزيم
AFB1 aldehyde reductase والذى يعود ثانياً إلى AFB1
بواسطة إنزيم dehydrogenase.

الباب التاسع
السموم الفطرية في
اللحوم ومنتجات اللحوم
المصنعة

**Mycotoxins in Meat and
Processed Meat Products**

الباب التاسع

السموم الفطرية فى اللحوم ومنتجات اللحوم المصنعة Mycotoxins in Meat and Processed Meat Products

كما هو معلوم السموم الفطرية هى مواد سامة تفرز بواسطة الفطريات وتشكل مجموعة غير متجانسة من الميتابوليت الثانوية لها تأثيرات سامة وصيدلية قوية ومتنوعة فى الإنسان والحيوان.

تم التعرف على أكثر من 300 ميتابوليت ثانوى ولكن حوالى 30 منهم حازوا الاهتمام الحقيقى على صحة الإنسان والحيوان، وتنتج الجزيئات أثناء نمو العفن الفطرى على النباتات فى الحقل أو أثناء فترة التخزين، ويمكن أن توجد كملوثات طبيعية لكثير من الماد الخضرية وأساسا الحبوب وأيضاً الفاكهة، المكسرات والأعلاف، بالإضافة إلى مكونات الطعام المطلوب لاستهلاك الإنسان والحيوان.

فى بعض البلاد الأفريقية وجد أن تحليل مستوى التلوث الفطري لعينات من اللحوم المجففة فى الشمس والتي يتم فردها مكشوفة على أرضية من الأسمنت مما يسمح فى الغالب بالتلوث بالغبار. وعلى أى الأحوال فإن الإصابات الفطرية على اللحوم الطازجة قد تتم عن طريق التلوث من المياه والهواء والأسطح والبيئة المحيطة بالسلاخنة بالإضافة إلى الأدوات المستخدمة أثناء الذبح وعمليات تجهيز اللحوم للبيع. وكذلك عدم النظافة الكافية والتطهير غير الكافى لمناطق العمل فى مصانع تجهيز اللحوم وللحيوانات المذبوحة والآلات ومعدات العمل المستخدمة تؤدى بدرجة كبيره للتلوث بفطريات العفن المنتجة للسموم. وكما هو معروف معظم أهم السموم الفطرية تنتج بواسطة الناتج من جنس كل من *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*، ويمكن تقسيم الجزيئات الناتجة تبعاً للأنواع الفطرية المنتجة لها فى الجدول التالى.

جدول (5) : السموم الفطرية و الفطريات المنتجة المصاحبة لغذاء الإنسان والحيوان :

Mycotoxins	Producing Fungi
Trichothecenes	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. tricinum</i> , <i>F. sporotrichioides</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. acuminatum</i>
Zearalenone	<i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> , <i>F. cookwellense</i>
Patulin	<i>Penicillium expansum</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Byssosclamyces nivea</i>
Ergot alkaloids	<i>Claviceps purpurea</i> , <i>C. paspali</i> , <i>C. africana</i>
Citrinin	<i>Aspergillus terreus</i> , <i>A. canescens</i> , <i>A. niger</i> , <i>Penicillium verrucosum</i> , <i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i>
Cyclopiazonic acid	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. tamarii</i> , <i>Penicillium camemberti</i> .
Sterigmatocystin	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. versicolor</i> , <i>A. nidulans</i>
Sporidesmins	<i>Pythomyces chartarum</i>
Stachybotryotoxins	<i>Stachybotrys chartarum</i> , <i>S. atra</i>
Endophyte toxins	<i>Neotyphodium coenophialum</i> , <i>N. noli</i>
Tremorgenic toxins	<i>Penicillium roqueforti</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P. puberulum</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>A. fumigatus</i>

بعض السموم الفطرية تكون hepatotoxic مثل aflatoxins وبعضها immunotoxic مثل fumonisins, trichothecenes, والبعض الآخر له estrogenic potential مثل المركب

zearalenone، ولقد اعتبرت سموم فطرية أخرى كمسببات سرطانية أو لها خواص سرطانية.

جدول (6) خواص السمية لبعض السموم الفطرية :

Mycotoxins	Toxicity	Effects
Ochratoxin A	Nephrotoxic , Genotoxic , Immunomodulation	Effect on protein synthesis, Inhibition of ATP production
Trichothecenes (T-2 toxin, DON, etc.)	Haematotoxicity , Immunomodulation skin toxicity	Impact on protein synthesis, Apoptosis of haematopoietic stem cells and on immune cells , Alteration of immunoglobulin
Zearalenone	Fertility and reproduction troubles	Bioactivation by reductase , Link to estrogenic receptors
Fumonisin B1	Lesion of central nervous system , Haematotoxicity , Genotoxic , Immunomodulation .	Inhibition of ceramide synthesis, Modification of sphinganine / sphingosins ratio , Alteration of cell cycle

المصدر الرئيسى لتعرض الإنسان المستهلك للسموم الفطرية هو الحبوب ومنتجاتها. وتعرض الإنسان المستهلك الى هذه المركبات بطريق غير مباشر قد يرجع الى وجود بقايا ملوثة فى الطعام المجهز من حيوانات تم تغذيتها على أعلاف ملوثة. بالنظر الى metabolic pathway فإن المتبقيات قد تكون المادة السامة

الأساسية أو الميتابوليت الذى يحتفظ بكل أو جزء من الخواص السامة للجزء الأساسى، وعلى ذلك فإن المرور خلال الحيوان animal filter قد يمثل عملية إزالة للسمية أو يؤدي الى ظهور مركبات أكثرسمية للإنسان المستهلك. ومن هنا المنتجات المشتقة حيوانياً قد تمثل ناقلاً للسموم الفطرية، وعلاوة على ذلك الثبات الكبير لهذه المركبات يجعلها تقاوم عمليات الطهى العادية و / أو التعقيم. الأفلاتوكسين AFB1 الذى يستهلك بواسطة أبقار اللبن يتم تمثيله جزئياً إلى جزء يسمى AFM1 (milk aflatoxin). أثبتت الدراسات أن السموم الفطرية قد تدخل طعام الإنسان ليس فقط من خلال علاقة المادة الخضراء والإنسان ولكن أيضاً خلال طريق أكثر تعقيداً خلال السلسلة الغذائية :

Vegetal → animal feed → animal tissues and derived products → human consumer

أثبتت الدراسات أن AFB1 يعتبر جوهر قوى مسبب للسرطان يؤدي الى hepatocarcinoma أولية وهذه الخاصية مرتبطة مباشرة بناتج تمثيله وظهور مشتق epoxide على الفعالية. يرتبط AFB1 - epoxide مع DNA، ومكان الارتباط هو موضع N⁷ فى الجوانين. الاختلافات فى ميتابولزم AFB1 داخل أنواع الحيوانات قد يفسر التغير فى قوة الاستجابة للقوة السرطانية للسموم الفطرية.

AFM1 يمكن اعتباره genotoxic agent وقوته كمسبب سرطاني أقل من AFB1. الوكالة العالمية لبحوث السرطان International Agency for Research against Cancer قامت بتقسيم AFB1 فى المجموعة (1) المسببة للسرطان، AFM1 فى مجموعة (2B) من الجزيئات المسببة للسرطان فى الحيوانات ومن الممكن أن يسبب السرطان فى الإنسان، AFG1 فى المجموعة (3) مركبات غير مسببة للسرطان. وضع الاتحاد الأوربي نظاماً لحدود تلوث الأفلاىتوكسين (ug / kg).

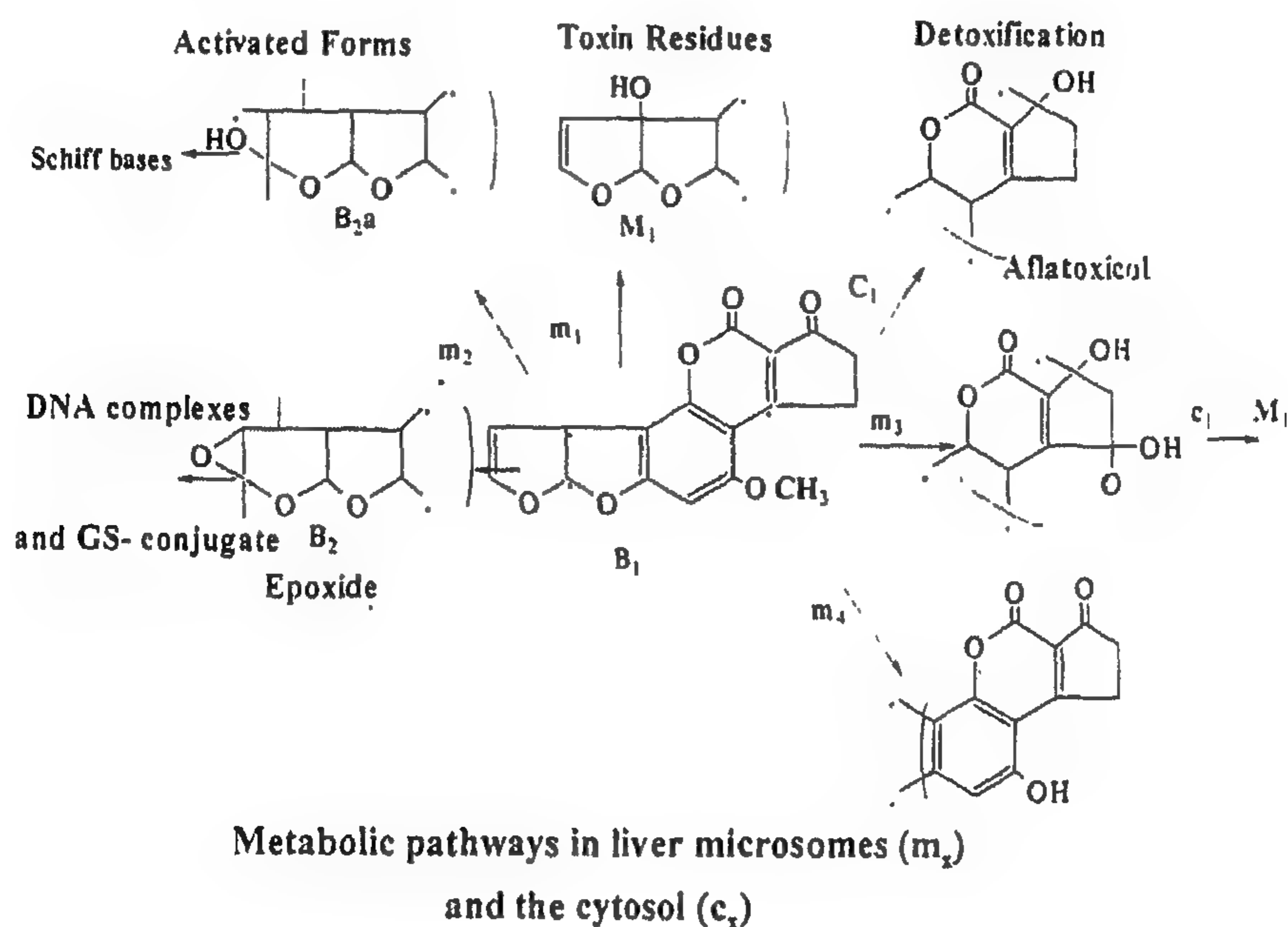
جدول (7) : حدود التلوث بالافلاتوكسن طبقا للاتحاد الاوربي:

Destination	Toxin	Matrix	Maximal concentration (ug / kg)
Human food	Aflatoxin B1	Groundnuts + grains + dry fruits	2.5 or 8 depending on the product and the processing step
		Cereals	2 or 5 depending on the product and the processing step
		Spices	5
		Cereal – based foods for young children	0.1
	Aflatoxin B1+B2+C1+G2	Groundnuts + grains + dry fruits	4,10 or 15 depending on the product and the processing step
		Cereals	4,10 or 15 depending on the product and the processing step
		Spices	10
	Aflatoxin M1	Milk	0.05
		Preparation for young children	0.025
Animal food	Aflatoxin B1	Raw material for animal feeds	20

يحدث الامتصاص في الأمعاء الصغيرة أما في البلازما يرتبط AFB1 بقوة مع الألبومين وجزء من هذا الارتباط يكون تعاونيا Covalent. ومن هنا يذهب AFB1 إلى الكبد والذي فيها الجزء الأكبر من المادة السامة يحدث له ميتابولزم ونسبة % 10 – 1 من AFB1 تظل ثابتة للجزيئات الكبيرة. يعتبر AFB1 جزء محب

hydroxyl compounds AFM1, AFQ1, AFP1,
hydrogenated and hydroxylated molecule: AFB2a

- ميتابوليت الصورة الهامة II لمشتق الـ epoxide
 هي المرتبطة تبادلياً Conjugated مع GSH:
 والـ glucorono-and sulfo conjugated forms of
 AFM1, AFQ1, AFP1



Fig(8) Phase 1 metabolism of aflatoxin B1 (Paterson,1977)

تكوين الـ epoxide هي عملية تنشيط حيوى ترجع إلى الفاعلية العالية جداً لهذا الجزيء مع جزيئات الكبد الكبيرة. والطريق الآخر للميتابولزم هو إزالة السمية detoxification يؤدي إلى مركبات بدون سميه مثل AFQ, AFP1, AFB2a أو التى تحتفظ ببقايا سمية مثل aflatoxicol, AFM1.

جدول (8) : متبقيات الأفلاتوكسين في أنسجة الحيوان .

Animal species	Dose and duration of exposure tissues	Tissues	Residues (µg/kg)	Metabolites
Poultry				
Turkey	50 and 150 µg/kg feed for 11 weeks	Liver	0.02-0.009 and 0.11- 0.23	AFB1+ AFM1
		Kidney	0.02-0.04 and 0.11- 0.21	AFB1+ AFM1
		Gizzard	0.04-0.16 and 0.01- 0.12	AFB1 (AFM1< 0.01)
Turkey	50 and 150 µg/kg feed for 11 weeks and 1 week with toxin – free feed	Liver	< 0.01	AFB1+ AFM1
		Kidney	< 0.01	AFB1+ AFM1
		Gizzard	0.04 – 1.9 and 0.09- 0.24	AFB1 (AFM1< 0.01)
Quail	3,000 µg/kg feed for 8 days	Liver Muscle	7.83± 0.49 5.31 ± 0.22	Free and conjugated AFB1
Duck	3,000 µg/kg feed for 8 days	Liver Muscle	0.52±0.04, 0.44±0.16 , 2.74±0.15, 3.81±0.25, 0.21±0.09,0.14±0.05	Free and conjugated AFB1 Free and conjugated metabolites
Chicken	3,000 µg/kg feed for 8 days	Liver Muscle	0.15±0.09, 0.01±0.01, 1.54±0.36, 0.94±0.04	Free and conjugated AFB1 Free and conjugated metabolites
Hen	3,000 µg/kg feed for 8 days	Liver Muscle	0.34±0.03, 0.23±0.08, 2.38±0.36, 4.04±0.1	Free and conjugated AFB1 Free and conjugated metabolites
Laying	10,000 µg/kg feed for 7 days	Eggs	0.28±0.1 0.08±0.03, 0.24±0.07, 0.25±0.09	AFB1 and aflatoxicol AFB1 and total aflatoxicol

Laying hen	2,500 µg/kg feed for 4 weeks	Liver Eggs	4.13±1.95, < 0.5 , < 0.01	AFB1 AFB1 and AFM1
Chicken	55 µg/kg feed for 9 days	Liver	0.26 and 0.02	AFB1 and AFM1
Chicken	4,448 µg/kg feed for 9 days	Liver	1.52 and < 0. 1	AFB1 and AFM1
Adult Pigs	395 µg/kg feed for 14 days	Liver	1.242±0.44,	AFB1, AFM1 and aflatoxicol
		Kidney	1.606±0.63,	AFB1, AFM1 and aflatoxicol
		Muscle	0.16±0.22	AFB1, AFM1 and aflatoxicol
Growing mixed breed swine	400 µg/kg feed for 10 weeks	Liver	1.13	Toyal aflatoxins +AFM1
		Kidney	0.83	Toyal aflatoxins +AFM1
		Muscle	ND	Toyal aflatoxins +AFM1
Growing mixed breed swine	800 µg/kg feed for 10 weeks	Liver	2.81	Toyal aflatoxins +AFM1
		Kidney	1.21	Toyal aflatoxins +AFM1+AFB1
		Muscle	0.64	+ AFB2
Gross-breed pigs	524 µg/kg feed for 35 days	Liver	2.01	AFB1+AFB2 +AFM1
		Kidney	3.951	AFB1+AFB2 +AFM1
		Muscle	0.443	AFB1+AFB2 +AFM1

أثبتت دراسات عديدة أن اللحوم الجافة المقددة المملحة قد تكون ملوثة بالسلالة المسببة للسمية الفطرية *A. flatus* خصوصاً عندما يتم تصنيع النواتج في البلاد ذات المناخ الحار. علاوة على ذلك فإن ظروف التصنيع قد تسمح بتخليق أفلاتوكسين، ولذلك لأهمية الصحة العامة يجب تقدير الناتج المحتمل من أفلاتوكسين B1 في عمليات تجهيز وتصنيع اللحوم. ولقد أثبتت الدراسات أن تكرار تلوث اللحوم المصنعة بالأفلاتوكسين B1 كان منخفضاً ومستوى المادة السامة في اللحوم كان في العادة أقل من 10 ng / gm، على أي الأحوال ليس من الواضح أن أفلاتوكسين B1 قد تم إنتاجه أثناء عملية تصنيع اللحوم أو كان موجوداً من قبل بالمستوى المتبقى في العضلات. وفي الحقيقة فيما يبدو أنه لا توجد علاقة بين وجود سلالة *A. flatus* المسببة للسمية وتلوث عينات اللحوم بالأفلاتوكسين.

التلوث المعتاد في التوابل والمواد الإضافية المستعملة في تصنيع اللحوم يمثل أيضاً مصدراً للسموم الفطرية. ووجد أن استعمال التوابل الملوثة بسلاله العفن المسببة للسمية كماده في عمل السجق قد تؤدي إلى تلوث ثانوي للناتج النهائي بالأفلاتوكسين ولذلك تظهر أهمية اللحوم كمصدر لتعرض الإنسان لمثل هذه الملوثات. من ناحية أخرى فإن قدرة أنواع كلا من:

Ochratoxin A على إنتاج *Asprigillus, Penicillium* (OTA) تجعله من الملوثات واسعة الانتشار في كثير من المواد الغذائية وهذا المركب سام للكلية في جميع أنواع الحيوانات ويحطم فسيولوجيا الخلايا، وتمثل اللحوم ومنتجاتها حوالي 3% كمصدر لـ 'OTA في وجبات الإنسان، ووجود السلالات الفطرية على منتجات اللحوم الجافة يؤدي إلى ارتفاع التلوث المباشر لهذه الأطعمة.

(Zearalenone (ZEA هو أحد السموم الفطرية له تأثير هرموني estrogenic effect وينتج بواسطة أنواع الفيوزاريوم، وهذا المركب يمتص بسرعة بعد تناوله بالفم.

وإفراز الـ ZEA والميتابوليت الخاصة به في البول يؤكد أن معدل امتصاصه عالي. ويمكن حدوث ميتابولزم له في القنوات الهضمية بواسطة كل من micro flora and intestinal mucosa. وهذا الميتابولزم يؤدي إلى ظهور:

α - and β - zearalenol and α - and β - zearalenone
تتغير نسبة تكوين الميتابوليت طبقاً لنوع الحيوان. ومن المعروف أن
estrogenic receptors α - zearalenol له قابلية عالية للـ
وعلى ذلك فإن ظهوره يعتبر تنشيط حيوى bioactivation.
عموماً إنتاج كل من:

trichothecene, zearalenone, fusariotoxins لم يتم
ملاحظته فى اللحوم المصنعة بسبب الظروف البيئية اللازمة لنمو
الفيزاريوم ومسببات السمية وهى أساساً نشاط المياه. عموماً
إكتشاف السموم الفطرية فى المنتجات ذات الأصل الحيوانى يكون له
علاقة بالظروف البيئية الموجودة سابقاً.

جراثيم العفن الفطرى تتواجد دائماً فى البيئة وتعطى قدرة للعفن
الفطرى على الحياة حتى فى الظروف الصعبة، لذلك من المستحيل
عملياً إزالتها من الطعام. الظروف أثناء إنتاج اللحوم المختمرة
fermented raw meat (مثل درجة الحرارة المحيطة، الرطوبة
النسبية، توزيع التيارات الهوائية) تكون مناسبة لنمو وتطور الـ
microscopic filamentous fungi، المواد المعطية للنكهة
خاصة التوابل spices التى تضاف الى اللحوم يمكن أن تساعد على
توزيع التلوث بالعفن الكلى فى المنتج النهائى. السبب الرئيسى لنمو
العفن الفطرى فى الـ fermented meat products يشمل أى
عملية تجفيف غير مناسبة تؤدى الى نشاط عالى للماء داخل المنتجات
الكلية أو على سطح المنتج فقط، بالإضافة الى ظروف التخزين غير
المناسبة، وفى مثل هذه الحالات قد تنبت الجراثيم وتنمو الفطريات
الخييطية المجهرية (microscopic filamentous fungi) حاملة
السمية وتنتج مواد سامة (metabolites) وتعرض صحة المستهلك
للخطر، ولذلك يجب العمل على منع نمو العفن الفطرى فى أماكن ذبح
الحيوانات (السلخانات) وفى لحوم الحيوانات المذبوحة، وكذلك
استعمال حجرات تصنيع ومخازن حديثة ونظيفة.

عموماً وجد أعداد كبيرة من الفطريات الخييطية المجهرية
microscopic filamentous fungi فى التوابل spices مثل
الفلل الأسود المطحون، جوزة الطيب nutmeg، مسحوق الثوم،
الكرامية المسحوقة، ويعتمد مستوى التلوث على الفصل الموسمى.

حيث يكون أعلى في فصل الصيف. ووجد أيضاً انتقال السموم الفطرية الى منتجات الدجاج مثل البيض واللحم. من ناحية أخرى في دراسات عن وجود الأفلاتوكسين وفطريات العفن المنتجة للأفلاتوكسين في اللحوم الطازجة والمصنعة في مصر، وجد أن اللحوم المصنعة مثل :

beef - burger, hot – dog, kubeba, sausage, luncheon
تحتوى أكبر عدد من من مسببات العفن بالمقارنة باللحوم الطازجة والمعلبة.

- تم اكتشاف aflatoxine B1 بمعدل 8ug/ kg في الـ beef – burger 35 ug/kg في عينات من الفلفل الأسود.
- تم اكتشاف aflatoxine B1, B2 في كل من :
 - ١- Kubeba بمعدل 150 ug B1/kg ، 25 ug B2 /kg
 - ٢- hot – dog بمعدل 5 ug B1/kg ، 2 ug B2 /kg
 - ٣- sausage بمعدل 7 ug B1/kg ، 3 ug B2 /kg
 - ٤- luncheon بمعدل 4 ug B1/kg ، 2 ug B2 /kg

- وجد في عينات من الكركم turmeric معدلات من 8 ug G1/kg ، 12 ug B1 /kg
- وجد في عينات من الكزبرة coriander معدلات من 2 ug G1/kg ، 8 ug B1 /kg

فطريات العفن المنتجة للأفلاتوكسين والأكثر تواجداً والمعزولة من كل من منتجات اللحوم والتوابل هي:

Aspergillus flaves , *A. parasitic*

الباب العاشر
منع وخفض السموم
الفطرية

Prevention and Decrease of
Mycotoxins

الباب العاشر

منع وخفض السموم الفطرية

Prevention and Decrease of Mycotoxins

أولاً : إستراتيجية خفض مخاطر السموم الفطرية :
التحكم فى المحتوى الرطوبى ودرجات الحرارة للسلع المخزونة سوف يحدد كثيراً درجة النشاط الفطرى. المحتوى الرطوبى يعتمد أساساً على محتوى الماء عند الحصاد ويمكن تعديله بواسطة التجفيف، التهوية، وتقليب الحبوب قبل وأثناء التخزين. وبعيداً عن طرق تعديل البيئة الفطرية، يوجد كثير من كثير من المركبات التى قد تثبط نمو العفن، فمثلاً الأحماض العضوية مثل حمض البروبيونيك prop ionic acid يكون الأساس لكثير من المواد المضادة للفطريات التجارية فى صناعة طعام الحيوانات. السموم الفطرية ثابتة جداً ولكن يوجد كثير من العمليات تقلل من مستوى التلوث مثل معالجة السلع الغذائية قبل تغليتها للاستهلاك الإنسانى.

طرق إزالة السموم الفطرية من الحبوب الملوثة تشمل :
معاملات فيزيائية وكيميائية . وبيولوجية، عمليات إزالة القشور decupling، الغسيل، عزل الكميات الملوثة من الحبوب أو الكيزان غير الملوثة، عمليات تصنيع ومعالجة الغذاء، المعاملة بالمواد الكيميائية مثل كبريتيت الصوديوم sodium bisulfite، الأوزون، الأمونيا.

أصبح من الضرورى فى صناعة الغذاء والعلف إضافة جواهر ارتباط للسموم الفطرية لكى تمتص هذه السموم بكفاءة عالية. ويوجد مواد مختلفة تم بحثها كجواهر ترتبط بقوة بالسموم الفطرية تشمل :
Synthetic cation or anion exchange zeolites, bentonite, hydrated sodium calcium aluminosilicate (HSCAS) and yeast cell wall preparations.

(hydrated sodium calcium aluminosilicate)HSCAS
له قابلية عالية لامتصاص الأفلاتوكسين وله القدرة لتكوين معقد.
ثابت مع المادة السامة وبالتالي يقلل تواجدها الحيوى ويقلل بدرجة
كبيرة التأثير المعاكس وتراكم المادة السامة فى النسيج.

Yeast cell wall – derived glucomannan أظهر فاعلية
لإدمصاص السموم الفطرية الآتية:
aflatoxin, zearalennone, fumoisins

الإضافات الغذائية التى تثبت الأنواع البكتيرية من *Eubacterium*
يمكن أن تؤدي الى إزالة سمية الـ trichothecenes بواسطة إزالة
مجموعة الـ epoxide (*in vivo*) .

وجد أن إضافة مواد رابطته mycotoxins binders الى المواد
الغذائية الملوثة قد تقلل من تأثير السموم الفطرية حيث أن مادة
الارتباط binders تزيل التلوث بالسموم الفطرية من العلف
بواسطة الارتباط بها بقوة وذلك لمنع التداخل السام للحيوانات
المستهلكة ولمنع امتصاص السموم الفطرية فى القنوات الهضمية
وذلك يعتبر منع بالإضافة الى العلاج .

ولإبطال التأثيرات غير المقبولة للسموم الفطرية يجب استعمال
المعايير التالية لتقييم وظيفة أى من الـ binding additive :
1- التحقق من كفاءة المكونات النشطة بواسطة بيانات علمية.
2- معدل تداخل منخفض النشاط.
3- الثبات على مدى واسع من الـ pH .
4- الكفاءة العالية لإدمصاص تركيزات عالية من السموم الفطرية.
5- القابلية لإدمصاص تركيزات منخفضة من السموم الفطرية.
6- التأكد من التداخل الكيميائى بين السموم الفطرية والمادة
المدمصة.

7 - بيانات *in vivo* لكل السموم الفطرية الرئيسية .

8 - مكونات غير سامة للبيئة الأخرى .

كل السموم الفطرية قد لا ترتبط مع تلك الجواهر وبالتالي فإن الطريق الأخير للتحكم في السموم الفطرية يكون بواسطة تثبيط أو إلغاء نشاطها باستخدام وسائل إنزيمية مثل: esterase, epoxidase، السلالات البكتيرية BBSH797 *Eubacterium*، الخميرة من النوع *Trichosporon mycotoxinovorans* حيث يمكن خفض السموم الفطرية قبل الحصاد.

يوجد طرق أخرى للتخلص من السموم الفطرية تشمل الفصل الفيزيائي، الغسيل، الطحن، المعاملة بالحرارة، استعمال الجواهر الكيميائية والبيولوجية، ولقد أثبتت طرق المعاملة بالإشعاع فعالية كبيرة ضد إنتاج كل من العفن والسموم.

ومن ناحية أخرى يوجد مواد ماصة قوية potential absorbent materials تستعمل لإزالة السموم الفطرية هي:

Activated carbon, alumina – silicates (Clay, bentonite, montmorillonite, Zeolite, phyllosilicate, etc.), Complex indigestible carbohydrates (Cellulose, polysaccharides in the cell wall of yeast and bacteria such as glucomannans, peptidoglycans,), and synthetic polymers such as cholestyramine and polyvinylpyrrolidone and derivatives.

وجد أن الألياف الغذائية الغير قابلة للهضم لها قوة امتصاص للسموم الفطرية. فمثلا ألياف ألفا ألفا alfa alfa fiber قللت تأثير كل من T-2 toxin, zearalenone في الفئران.

وجد أن الخلية الحية *Saccharomyces cerevisiae* تقلل تأثير الافلاتوكسين في الوجبات المشوية broiler dict. المادة اللبفية من جدار خلية الخميرة وجد لها قوة ارتباط مع السموم الفطرية المختلفة.

Esterified glucomannan polymer المستخلص من جدار خلية الخميرة يرتبط مع كل من aflatoxin, ochratoxin, T – 2 toxin بصورة فردية أو مجتمعة. كما وجد أنه عند إضافة هذا

المركب الى وجبات من لبن البقر ملوثة بالأفلاتوكسين قد قلل متبقى الافلاتوكسين بدرجة ملحوظة، وكذلك هذا المركب له قدرة على الارتباط مع كثير من السموم الفطرية.

بعض البكتيريا مثل سلالات من lactic acid bacteria, propionbacteria, bifidobacteria لها قدرة على الارتباط مع السموم الفطرية مثل الافلاتوكسين وبعض نواتج الفيوزاريوم (zeaalenone, *in vitro*) الـ Cholestyramine resin يستعمل في أدوية الانسان لخفض الكوليسترول ووظيفته امتصاص أحماض الصفراء bile acids، وهذا المركب يمتص كل من fumonisins, zeaalenone كما وجد أنه يخفض الـ ochratoxin في بلازما الفئران المستهلكة لهذا السم الفطري ويزيد إفرازه في البول. عموماً فإن كل المواد الرابطة أو الماصة يجب أن تمنع أو توقف سمية الحيوان بواسطة السموم الفطرية بدرجة ملحوظة ولا يكون لها تأثيرات خطيرة على الحيوان أو يكون تأثيرها عديم القيمة على الأقل.

طرق معادلة وإزالة التلوث بالسموم الفطرية :

Neutralization / Decontamination Methods of
Mycotoxins:

١. الأكسدة: Oxidation:

يتم إزالة السم الفطري trichoecene باستعمال جوهر مؤكسد .

المعاملة بمحلول 0.025 % NaOH – 0.25 % NaOCl لمدة 4 ساعات يثبط النشاط الحيوي للسم الفطري T – 2 toxin، وكذلك تمت التوصية باستعمال NaOCl كجوهر لإزالة التلوث من T – 2 toxin وأي trichoecenes أخرى. وقد اقترح أيضاً أكسدة بعض مشتقات الـ trichoecenes بالأوزون عند الرابطة المزدوجة بين 10 – 9 C بإضافة ذرتين أكسجين. بالإضافة لذلك فإن حالة الأكسدة عند الـ allylic carbon في الموضع 8 تتأثر بسهولة بالأكسدة.

الأكسدة البيولوجية biological oxidation تكون أكثر تخصصاً عن الأكسدة الكيميائية. فالأكسدة التي تتم بواسطة إضافة مجموعة هيدروكسيل hydroxylation في جسم الحيوانات تؤدي إلى إضافة مجموعة هيدروكسيل عند الموضع 3 - C للـ trichoceenes المستبدل عند C8. من ناحية أخرى، مجموعة الهيدروكسيل عند C3 في DON تتأكسد من الـ hydroxylation إلى كيتون بواسطة الكائنات الدقيقة. أكسدة T - 2 toxin بواسطة إضافة مجموعة هيدروكسيل وتكوين:

3' - hydroxyl T - 2 toxin (3' - OH T - 2) and /or 3'-hydroxyl HT-2toxin (3'- OH HT - 2) وجدت في شجيرات الـ *Baccharis spp.* وفي بعض أنواع الحيوانات مثل الفئران، القروء، الأرانب، الدجاج، الخنزير والبقر. لقد لوحظ تكوين كل من:

3' - OH HT - 2 and 3' - OH T - 2 في الكائنات الدقيقة في وجود NADPH.

وجد أن خليط من تربة ميكروبية متحصل عليه من تربة حقول الحبوب والحشرات ومصادر أخرى كان قادراً على تحويل الـ DON إلى 3-Keto - DON.

٢. الإختزال : Reduction :

الإختزال يمكن أيضاً أن يغير التركيب الجزيئي والنشاط الحيوي للسموم الفطرية من مجموعة الـ trichoceenes فمثلاً كبريتيت الصوديوم NaHSO₃ يحول DON إلى DON - sulfonate الأقل سمية بدرجة كبيرة عن DON. تم اختبار جواهر الإختزال مثل حمض الأسكوربيك، NaHSO₃، Na₂S₂O₅ المستعملة كإضافات للمواد الغذائية لمعرفة قدرتها على تحويل الـ DON في الحبوب. وجد أن المعاملة بـ ascorbic acid % 2 عند 22 °C لمدة 24 ساعة قللت تركيز الـ DON بنسبة 50% في القمح.

٣ . التحلل المائي : Hydrolysis

معظم الـ trichoceenes تحتوى مجاميع أسيتايل ، وعدد ومواضع مجاميع الأسيتايل يؤثر على سمية هذه المركبات وبالتالي فإن إزالة الأسيتايل deacetylation عن طريق التحلل المائي يكون هام جداً بسبب أن ذلك يغير فى سمية الـ trichoceenes .

٤ . إضافة جزيء ماء (الهيدرة) : Hydration

تفاعل الهيدرة هو إضافة أيونات H^+ , OH^- الى ذرتى كربون الرابطة المزدوجة . وجد أن أحد سلالات *Aspergillus sp.* كانت قادرة على تحويل 94.4 % من الـ DON الى مركب كيميائى له وزن جزيئى أعلى بقيمة 18 عن الـ DON المقابل بعد أسبوعين تحضين .

ثانيا : منع السموم الفطرية Prevention of mycotoxins :

منع تكوين السموم الفطرية يكون أساسياً نظراً لوجود طرق قليلة للتغلب كلية على مشاكل تواجهها. الضرر الناتج من الفطريات والحشرات له أهمية كبيرة فى إثارة نمو العفن وتكوين السموم الفطرية فى الحقل لذلك فإن الأصناف المقاومة للأمراض الفطرية أو أضرار الحشرات تنتج سموماً فطرية فى الحقل بدرجة قليلة جداً، والأصناف التى تتكيف مع مناطق النمو، ونظام الري يمكن أن تقلل من تكوين السموم الفطرية فى الحقل. وعند الحصاد يجب تجنب سقوط المواد لأن التلامس مع التربة يزيد السموم الفطرية، وكذلك تزيد السموم الفطرية مع الحصاد المتأخر وفى نهاية فترات فصل المطر.

يزيد مستويات السموم الفطرية فى الحبوب التالفة ولذلك يجب صيانة أجهزة الحصاد لتجنب تلف الكيزان والحبوب حتى يتم تخزين حبوب سليمة وجافة. ومن المعلوم أن تركيز السموم الفطرية يكون عالياً فى

الحبوب المكسورة والناعمة والتالفة ولذلك يجب التنظيف وإزالة التالف لتقليل تركيزات السموم الفطرية من الغذاء والعلف. بعد الحصاد يجب عدم السماح بأن تكون الرطوبة في الحبوب عند مستوى لا تزيد عن 18 - 15%، وقد يوجد نمو عفنى قليل فى الحبوب عند أقل من 15% رطوبة ولكن التجفيف الى مستويات أقل من 13% يساعد على التغلب على تركيزات الرطوبة غير المنتظم خلال الكمية الكلية للحبوب.

درجات الحرارة العالية تزيد كمية الرطوبة الحرة (water activity) فى الحبوب والتي تكون السبب الأول لنمو العفن فى المخزن، ولذلك يجب أن يكون المخزن مجهزاً بدرجة كافية للتخلص من هجرة أو تكثيف أو تسرب الرطوبة.

الحبوب المخزنة لأكثر من أسبوعين يجب حفظها بالتهوية حيث أنه بمجرد بداية نمو العفن الفطرى فى مساحات منفصلة فإن الرطوبة الناتجة بواسطة الميتابولزم تكون كافية لتنبية انتشار نمو العفن الفطرى وهنا تكون التهوية هامة حيث تقلل هجرة الرطوبة وانتقالها كما تقلل تركيزات الرطوبة غير المنتظمة.

فى أماكن التخزين يجب حماية المواد الغذائية والعلف من الأمطار أو أى مصادر مياه أخرى، ويجب أن تكون مجهزة بحاجز بخار vapor barrier على الأرض لتقليل الرطوبة. فى حالة وجود سلع مبللة مخزنة بالقرب من أخرى جافة فإنه يجب حماية السلع الجافة من التلوث الرطوبى. عموماً يجب تنظيف أماكن التخزين للتخلص من مصادر الـ inoculation، ويجب مراقبة السلع المخزنة على فترات منفصلة لتقدير حدوث ارتفاع حرارى وتكوين العفن. ويمكن استعمال الأحماض العضوية كماد حافظة للمواد الغذائية العالية الرطوبة وذلك للتخزين المناسب. وجد أنه من الصعب جعل مستويات الرطوبة فى التبن أو القش منخفضة بقدر كاف لمنع نمو العفن الفطرى الذى قد ينمو فى التبن عند مستويات رطوبة أعلى من 15% - 12.

منع السموم الفطرية فى العلف المحفوظ silage للحصول على علف مقبول، يتم بواسطة منع التلف فى أول الأمر بواسطة خفض الـ

pH بسرعة والتخلص من الأكسجين. وعموماً للحصول على علف مقبول يتم من خلال تطبيق مايلي :

- الحصاد عند مستوى رطوبى مناسب.
- القطع المنتظم عند طول مناسب.
- تملأ مخازن الـ silo بسرعة. (silo هو مبنى اسطوانى خشبى أو أسمنتى عالى محكم الإغلاق يحفظ فيه الحبوب أو علف الدواب).
- تعبئة العلف silage بدرجة جيدة لطرد الهواء. (silage هو علف محفوظ فى الـ silo).

- إستعمال مساعد فعال للتخمر والتغطية الكاملة.

تسرب الهواء بعد حفظ العلف فى الـ silo قد يسمح بنمو كائنات تتحمل الأحماض مع زيادة الـ pH ونمو العفن الفطرى، فمثلا عفن البنسيليوم قادر على احتمال الحامض وقد ينمو فى وجود أى هواء. ومن ناحية أخرى فإن النشاط الميكروبي أو أى إضافات قد تقلل الـ pH بسرعة وبالتالي تقلل نمو العفن الفطرى وتكوين السموم الفطرية. كل من الأمونيا، حمض البروبيونيك، حمض السوربيك sorbic acid، النشاط الميكروبي أو الأنزيمى للإضافات فى العلف أظهرت فعالية جزئية لتثبيط نمو العفن الفطرى. فمثلا الأمونيا المضافة يمكن أن تقلل نمو العفن الفطرى من خلال التثبيط المباشر، أما الأحماض العضوية فتوفر الحموضة اللازمة للحفظ بدون الاعتماد على الأحماض الناتجة ميكروبياً وتستعمل الأحماض العضوية لمعامله الكتلة الكليه من العلف أو المعاملة الاختياريه للطبقات الخارجية من الـ silo.

المكافحة البيولوجية لفطريات العفن المنتجة للسموم الفطرية

Biological control of mycotoxin - producing molds:

أمراض ما بعد الحصاد postharvest diseases التى تنتج بواسطة فطريات المخازن المسببة للعفن تؤدي الى مستويات كبيرة للفقد ما بعد الحصاد، وتم تقدير فقد بنسبة 25% - 20 فى الفاكهة والخضر التى تم حصادها بسبب أمراض ما بعد الحصاد. الفقد بعد

الحصاد فى الدول النامية يكون أكثر خطورة بسبب عمليات النقل والتخزين غير المناسبة وهذا فى الغالب يجعل البيئة ملائمة للنمو الفطرى فى المخزن. ومعظم هذه الفطريات تنتج ميتابوليت خطيرة تسمى mycotoxins سامة بطريقة حادة على الإنسان والحيوان والنبات.

التلوث بالسموم الفطرية قد يحدث فى الحقل قبل أو بعد الحصاد أثناء نقل وتخزين المحصول، ومركبات السموم الفطرية مقاومة بدرجة عالية للمعاملة الكيميائية والفيزيائية، وبمجرد وجودها فى الأطعمة فإنها تصمد أثناء التخزين والتصنيع. لذلك لمنع أو على الأقل تقليل الفقد فى الإنتاج وللحصول على منتجات غذائية عالية المواصفات للتسويق يجب وضع إستراتيجية لمكافحة كل من فطريات المخازن وإنتاج السموم الفطرية.

كما هو معروف أن أقدم السموم الفطرية التى تصيب الإنسان هو ergotism (التسمم الارجوتى الناتج عن أكل من أرز أو أى حبوب مصابة بالارجوت ergot الذى يصيب حبوب الأرز وغيرها من الحبوب بواسطة الفطريات حيث يحل محل الحبة جسم طويل داكن اللون). تلوث الحبوب بالـ ergotoxin يتم بواسطة الأجسام الحجرية لـ *Claviceps purpurea* ومرض ergotism يسبب تشنجات نتيجة حدوث تنبيه فى الجهاز العصبى المركزى.

تم التعرف على حجم التلوث الفطرى خلال الحرب العالمية الثانية حيث وجد أن استهلاك الحبوب الملوثة بالعفن قد سبب إصابات جلدية، نزيف دموى، فشل فى الكلى والكبد لعدد كبير من الناس والحيوانات.

المكافحة البيولوجية : Biological control

تم تقدير أن 25% من المواد الزراعية تتلوث بالسموم الفطرية بدرجة معينة، ومن هنا كان التركيز على وضع إستراتيجية لتقليل تركيز السموم الفطرية فى الغذاء.

الإستراتيجية الرئيسية هي استعمال مبيدات الفطريات والتي إعتبرت الوسيلة الأولية التي يمكن بها مكافحة أمراض ما بعد الحصاد postharvest diseases.

وبهدف استبدال المواد الكيميائية المخلقة وتلافى تأثيراتها الجانبية ببدايل أخرى ضد فطريات المخازن وإيقاف إنتاج السموم الفطرية تم استخدام كائنات دقيقة مضادة antagonistic microorganisms.

قد يحدث التلوث بالعفن والسموم الفطرية عند أى مرحلة من سلسلة إنتاج الغذاء أو الأعلاف: إما قبل الحصاد، أثناء الحصاد أو بعد الحصاد فى المخازن. لذلك من الضرورى بعد اختيار ال antagonists الفعالة التى تطبق بكفاءة لمكافحة المسببات المرضية أو إيقاف إنتاجها من السموم الفطرية. وعلى هذا الأساس يمكن التوصية بالمضادات الميكروبية microbial antagonists من خلال طريقتين إما عند الحصاد أو مرحلة ما بعد الحصاد.

أولا : إستراتيجية ما قبل الحصاد postharvest strategy والتي تهدف الى منع نمو الفطريات وإيقاف إنتاجها من السموم الفطرية فى الحقل. فمثلا يستعمل فى الوقت الحالى سلالات غير منتجة للسموم تنافسيا competitive nontoxigenec strains لإنتاج السموم الفطرية من فطر *Aspergillus flavus*. ويعتمد ذلك على التنافس بين السلالات السامة وغير السامة toxigenic and nontoxigenic strains لمنع أو إقصاء السلالة السامة فى نفس البيئة الملائمة.

تم تسجيل منتجين كمبيدات حيوية لمكافحة الأفلاتوكسين :

1 - المنتج الأول هو AF - 36 الذى يعتمد على سلالة الفطر *A. flavus* غير السامة. يستخدم هذا المنتج لمكافحة الأفلاتوكسين فى بذور القطن.

2 - المنتج الثانى هو Alfa - Guard يعتمد على السلالة غير السامة من الفطر *A. flavus* (NRRL 21882) لمكافحة الأفلاتوكسين على الذرة فى الحقل، والذرة السكرية، وفشار الذرة وفول السودانى.

ثانيا: إستراتيجية ما بعد الحصاد postharvest approach والتي تقع في طريقتين:

- 1- إيقاف مسببات المرضية في هذا الوقت بعد الحصاد.
 - 2- التخلص التام من التلوث بالسموم الفطرية بواسطة تطبيق الـ microorganism antagonists
- يمكن إيقاف مسببات المرضية بواسطة البينات الميكروبية التي يمكن تطبيقها إما في صورة رشاً بعد الحصاد أو غمراً في محلول الـ antagonists .

معاملة الغمر تحتوى معلق خميرة *Saccharomyces cerevisia* والتي استعملت ما بعد حصاد محصول البن أثناء التصنيع وتؤدي الى خفض كلى في حدوث العفن الكلى (*A. Niger, A. ochraceus*) وكذلك خفض التلوث بالـ ochratoxin A، وبالمثل لوحظ خفض معنوى على انتاج وتراكم الأفلاتوكسين بواسطة *A. parasiticus* فى الفول السودانى بعد معاملة الحبوب بمعلق *Streptomyces*. أظهرت بعض الدراسات أن عملية إزالة التلوث الفطرى يمكن الوصول اليها باستعمال إنزيمات بعض الخمائر، البكتيريا أو الفطريات التي تحطم السموم الفطرية إلى مركبات غير سامة وتقلل التأثير الضار لها، فمثلا خميرة *Trichosporon* تعمل على إزالة سمية كل من zearalenone, ochratoxin تتم إزالة سمية الـ ochratoxin بواسطة كسر الـ phenylalanine moiety لتكوين مشتق له كميثابوليت غير سام.

كيف يمكن تحفيز كفاءة المضادات البيولوجية :
على الرغم من التقدم السريع الذى تم فى مجال مكافحة البيولوجية لأمراض ما بعد الحصاد خلال العشرة سنوات الأخيرة فقد ظهرت صعوبات للحصول على السلالات المضادة antagonistic strains التي يكون لها نشاط واسع ضد مسببات المرضية المنتجة للسموم الفطرية المختلفة ، وبسبب ذلك فبدلاً من استعمال عزلة

بمفردها فإن الإتجاه فى الوقت الحالى هو تطبيق جوهر ميكروبي بالتناسق مع طريق آخر .

المكافحة البيولوجية والعمليات الزراعية الجيدة :

الخطوة الأولى المنطقية لإدارة التلوث بالمسببات المرضية هو العمليات الزراعية الجيدة فى الحقل والمخزن . بعض هذه العمليات يعتمد على الاختيار الجيد لمادة المحصول للزراعة بالإضافة الى وقت الحصاد. على وجه العموم المحاصيل المتأخرة هى الأكثر احتمالا لظهور تلوث السموم الفطرية، وعلى ذلك يجب التجفيف المباشر للحبوب والبذور وحبوب القهوة والفاكهة. علاوة على ذلك يجب أن يوضع فى الاعتبار درجة الحرارة والرطوبة عند ظروف التخزين. بعض المواد الأخرى مثل حبوب الذرة فإن اختيار الهجين hybrid، كثافة النباتات، زمن الزراعة، مكافحة الحشرات قد يكون لها تأثير على تلوث المادة السامة.

بعض العوامل التى تؤثر على الفطريات وتواجد السموم الفطرية فى السلسلة الغذائية كالتالى :

- العوامل البيولوجية: محصول حساس وفطر منتج للمادة السامة.
- العوامل البيئية: درجة الحرارة، الرطوبة، الضرر الميكانيكى والتحطيم بواسطة الحشرات والطيور.
- الحصاد: نضج المحصول، درجة الحرارة، الرطوبة أثناء الحصاد، واكتشاف التلوث .
- التخزين: درجة الحرارة، الرطوبة، واكتشاف التلوث.
- التوزيع: اكتشاف التلوث والتحويلات.

مخلوط المضادات : Antagonist mixtures

المكافحة البيولوجية الفعالة تعتمد على مخلوط من المضادات غير التنافسية تعمل فى وقت واحد وتؤدي الى فرص للنجاح عن المكافحة المعتمدة فقط على كائن دقيق فردى .

- فوائد استعمال مخلوط الـ *microbial antagonists* مثل :
- اتساع مدى المسببات المرضية النباتية المستهدفة.
 - خفض الفقد الراجع الى الظروف البيئية الغير ملائمة.
 - اكتشاف أكثر من ميكانيكية للمكافحة.
 - تجميع فوائد المكافحة الحيوية المختلفة بدون نقل إلـ *exogenous genes* خلال التحولات الوراثية .
- وعلى سبيل المثال فإن المدى الكبير للمسببات المرضية على التفاح تم مكافحته عندما تم تطبيق إلـ *antagonists microbial* في صورة مخلوط بدلا من استعمال السلالات الميكروبية منفردة. وبالمثل وجد أن النقص في تركيز الأفلاتوكسين في حقول الفول السوداني من 75 الى 9.99% في حقول الفول السوداني كان نتيجة استعمال مخلوط من طفرات غير سامة من *A. flatus and A. parasiticus* وهذان المثالان يوضحان درجة المكافحة العالية التي تتم باستعمال مخلوط من جواهر المكافحة الحيوية حتى في ظروف الحقل .

الإضافات الى الجوهر البيولوجي:

Biological agent additives:

كثير من المواد المضافة يمكن أن تحفز نشاط المكافحة البيولوجية بواسطة إلـ *antagonists* وفي هذه الحالة فإن الأملاح هي الأكثر ملائمة. فمثلا وجد أن خليط من 2% كربونات صوديوم مع إلـ *yeast antagonist* المنتج من الخميرة *Candida oleophila* يحفز عمله بدرجة كبيرة في المكافحة الحيوية (تأثير علاجي ووقائي) ضد أمراض العفن الفطرية في التفاح والخوخ بسبب *Botrytis, Penicillium, Monilina, Rhizopus*.

ثالثًا : محاولات لتثبيط إنتاج السموم الفطرية

Trials for inhibiting mycotoxin production:

1. يمكن خفض محتوى السموم الفطرية في المحصول الذي تم حصاده harvested crops بواسطة رش مبيد فطري يحتوى benzimidazole كماده فعالة على محاصيل الطعام.
2. يمكن رش المبيد الفطري على محاصيل الطعام أثناء مرحلة النضج حتى حصادها.
3. قد يكون المبيد الفطري عبارة عن مزيج يحتوى مبيد فطري من النوع benzimidazole وأحد المركبات التالية:
strobilurin-type agent, sterol biosynthesis inhibitor, guanidine – type fungicide.
4. يحدث ذلك عندما يكون محصول الغذاء هو القمح، الشعير وما شابه ذلك.
5. تجنب نمو أصناف عالية الحساسية في المناطق ذو تاريخ متعلق بانتشار الإصابة.
6. تجهيز للرش مباشرة إذا كان الجو رطباً عند الإزهار.
7. استخدام مخلوط مبيدات فطرية للحصول على تأثير كبير ضد الأنواع المنتجة للسموم.
8. يتم الرش بسرعة بقدر الإمكان بعد الإصابة.
9. تقييم مكان المحصول.
10. عمل اختبار للحبوب عند وجود شك في التلوث.

رابعاً : علاقة الـ Bt Corn وخفض السموم الفطرية: B_t Corn and Mycotoxin Reduction:

من خلال كثير من المحاصيل ذات الجين الانتقالي (جين أو ماده وراثية تنتقل طبيعياً بواسطة عدد من عمليات الهندسة الوراثية من عضو لآخر) تقدم منافع للمنتجين وقد تؤدي أيضاً فوائد لصحة المستهلك.

ويعتبر B_t - Corn هو أحد المحاصيل النامية عن طريق الانتقال الجيني transgenic. حيث يحتوى الجين من بكتريا التربة *Bacillus thuringiensis* والذي يتحول إلى بروتين يكون ساماً لآفات الذرة مثل كثير من رتبة حرشفية الأجنحة Lepidoptera والتي تشمل آفات الذرة الشائعة مثل ثاقبات الذرة الأوربية (*Ostrinia nubilalis*) وثاقبات الذرة الجنوب غربية (*Diatraea grandiosella*)، دودة حبوب وكيزان الذرة (*Helicoverpa zea*) ودودة جذور الذرة (*Diabrotica spp*). B_t Corn غير ضار للفقاريات والحشرات غير هذه الرتبة المذكورة.

أحد الفوائد غير المباشرة من B_t - Corn توضح المستويات المنخفضة من التلوث بالسموم الفطرية. وكما هو معروف أن السموم الفطرية لا يمكن تجنبها في الطعام ومع توفر أحدث وأحسن الطرق التكنولوجية لا يمكن التخلص كلية من وجودها في المحاصيل.

تعتبر الإصابة الحشرية أحد العوامل التي تؤدي بالذرة إلى التلوث الفطري بسبب أن الحشرات آكلات الأعشاب تحدث أضراراً وجروح في الحبوب kernel wounds والتي تشجع المستعمرات الفطرية، والحشرات نفسها تعمل كناقلات للجراثيم الفطرية.

وعلى ذلك فإن طرق خفض الإصابة الحشرية في الذرة الذي يعمل على خفض خطورة التلوث الفطري. ولقد أظهر B_t - Corn مستويات خفض معنوى لمعظم السموم الفطرية.

عموماً يوجد أربعة من السموم الفطرية تلوث الذرة وبعض الحبوب الأخرى:

1. Fumonisin (كما هو معروف) بواسطة كل من

Fusarium verticillioides, *F. proliferatum*

2. Deoxynivalenol (DON, or vomitoxin) وهو أحدث

الملوثات المعنوية في الذرة والقمح والشعير في المناطق المعتدلة

مثل الولايات المتحدة، كندا، أوروبا وينتج بواسطة

الفطريات *F.graminearum* وكذلك النوع الخاص بالمناطق

الباردة *F. culmorum*.

3. Zearalenone وينتج أيضاً بواسطة *F. graminearum*

4. Aflatoxins وينتج أساساً بواسطة الفطر *A.flavas*

توجد عوامل مختلفة تجعل الذرة يصاب بالنمو الفطري وتراكم السموم الفطرية بعد ذلك. الذرة ما قبل الحصاد في وجود درجات حرارة عالية أو متقلبة أو جفاف قد يؤدي إلى عدم توافق هجين الذرة corn hybrid مع المنطقة التي تم زراعتها فيها والتلف الناتج من الآفات الحشرية يزيد مستوى السموم الفطرية. وجدير بالذكر أن الضرر الحشري يعرف جيداً كعامل مكمل في تزايد السموم الفطرية.

حشرات دودة كيزان وحبوب الذرة (CEW) corn earworm وجد أنها في الحقل تشارك في تركيز السموم الفطرية في الذرة. والضرر الحشري أيضاً يؤدي إلى تراكم السموم الفطرية في التخزين. لذلك فإن Bt - corn يخفض مستوى ضرر الحشرات وبذلك يكافح بطريق مباشر أحد العوامل المؤدية إلى تراكم السموم الفطرية.

في منطقة حزام الذرة في الولايات المتحدة أثبتت الدراسات الحقلية أنه عندما تكون الإصابة الحشرية من ثاقبات الذرة الأوروبية European corn borer(ECB) أو ثاقبات الذرة الجنوبية الغربية.

Southwestern corn borer(SWCB) عاليه فإن تركيزات fumonisin تكون منخفضة بدرجة معنوية فى Bt - corn بالمقارنة بالذرة التقليدى. ولقد أظهرت الدراسات أيضاً فى أوربا وأماكن أخرى فى العالم أن Bt - corn فى الحقول به مستويات منخفضة بدرجة ملحوظة من الـ fumonisin بالمقارنة مع الذرة التقليدى.

من ناحية أخرى فإن الإصابة الحشرية ليست لها علاقة قوية بتركيزات الـ aflatoxins فى الذرة بسبب وجود عوامل متعددة تؤدي إلى تراكم الـ aflatoxins فى الذرة. فمثلاً، الحشرات حشرية الأجنحة التى تكافح بواسطة أصناف الـ Bt - corn المتاحة تجارياً فى الوقت الحالى ليست هامة فى جعل النبات يصاب بواسطة فطر *A. flavus* حيث أن هذا الفطر قد يصيب الذرة من خلال الأنسجة وليس من خلال جروح فى الحبوب وفى كيزان الذرة التى تتم بواسطة الحشرات.

أظهرت دراسات أخرى أن بعض العوامل مثل الضغط الناتج من الجفاف والهجين الفردي القابل للإصابة والجروح تكون أكثر أهمية فى تقدير مستويات التلوث بالأفلاتوكسين عن التلوث الحشرى. ومن هنا يمكن القول أن:

1- التشريع الحالى للاتحاد الأوروبى ومنظمه الأغذية والزراعة وضعت حدوداً لمعظم السموم الفطرية فى الحبوب ومنتجاتها (مثل سموم الفيوزاريوم التى تحدث فى الحقل، Ochratoxin A التى تحدث فى المخزن).

2- العمليات الزراعية الجيدة تقلل من السموم الفطرية حيث أن سموم الفيوزاريوم الفطرية قد تنتج على محاصيل الحبوب فى الحقل كنتيجة للإصابة بلفحة الفيوزاريوم fusarium ear blight حيث أن الخطورة تختلف بين السنوات والمناطق معتمده على المناخ.

3- تعتبر العمليات الزراعية الجيدة هى الميكانيكية الأولية لخفض السموم الفطرية فى الحبوب ومنتجاتها.

4- يجب عمل تقييم الإصابة risk assessments طوال العام لتقدير مدى التلوث بسموم الفيوزاريوم فى المحاصيل وذلك من خلال المحصول السابق، الزراعة، عمليات الرش ثم الحصاد كعوامل للتأثير التراكمى Cumulative effect. فمثلاً يجب تفادى تكرار

المحاصيل التي تعتبر عائل لفطريات الفيوزاريوم (مثل الذرة، القمح، الشعير والشوفان) مع خفض متبقيات المحصول السابق على سطح التربة بواسطة عمليات الحرث.

يجب اختيار أصناف أكثر مقاومه للفيوزاريوم. والاهتمام باختيار مبيد فطري مناسب بالجرعة والمواعيد المناسبة للرش لمكافحة ear blight، ويجب تحديد الوقت الملائم للحصاد والحبوب الجافة تحت 18% محتوى رطوبى، كما يجب مكافحة الحشائش حيث يمكن تواجد فطريات الفيوزاريوم على عدد كبير من الحشائش مما يؤدي إلى خفض الفطر والسموم الناتجة منه. مع مكافحة الحشرات حيث أن أضرار الحشرات هي طريق جيد للإصابة الفطرية.

5- عمليات التخزين الجيدة تقلل الـ Ochratoxin A الذى قد ينتج على الحبوب أثناء التخزين. وتعتبر درجة الحرارة والمحتوى الرطوبه هي عوامل التخزين الهامة التى تؤثر على إنتاج Ochratoxin A وعلى ذلك تعتبر عمليات التخزين الجيدة هي الميكانيكية الأولية لخفض إنتاج Ochratoxin A فى الحبوب ومنتجاتها عن طريق التخزين الجيد، توقيت الحصاد، التأكد من كفاءة وسرعة التجفيف والتبريد المستمر مع تقدير درجة الحرارة والمحتوى الرطوبى والنشاط الحشرى يتم ذلك عن طريق :

- التأكد من التصميم الجيد للمخازن بالتهوية الجيدة وتيار الهواء.
- حصاد نظيف وآلات التخزين نظيفة لمنع تواجد الجراثيم الفطرية طول الموسم، صيانة الماكينات لعدم تأخير الحصاد.
- العمل على التجفيف السريع بالهواء الساخن إلى أقل من 18% محتوى رطوبى لتقليل خطورة تواجد Ochratoxin A فى المخزن، ثم تبريد الحبوب السريع إلى أقل من 15° C.
- التجفيف المستمر إلى أقل من 15% محتوى رطوبى للتخزين طويل المدة مع التبريد المستمر فى شهور الشتاء إلى أقل من 5° C .

- القياس المستمر لدرجة الحرارة والمحتوى الرطوبى.
- استعمال مصائد أو مناخل لتقدير الحشرات والقراد والمكافحة عند الضرورة.

خامسا : كيفية دخول السموم الفطرية جسم الإنسان وتفاديها:
عندما يكون الناس في محيط العفن السام فإنهم في العادة يتعرضون للسموم الفطرية. المتواجدة هوائياً airborne micotoxins بواسطة التنفس والاستنشاق وهذه السموم الفطرية تدخل الرئتين وتسبب مشاكل تنفسية وأعراض شديدة أخرى. السموم الفطرية في الهواء قد تتداخل أيضاً خلال أعين الأشخاص، السموم الفطرية من مجموعة trichothecene قد تمتص خلال الجلد أيضاً. الأعراض تحدث بواسطة Stachybotrys (التي تسمى في الغالب العفن الأسود السام toxic black mold).

يوجد طريق آخر لدخول السموم الفطرية الى جسم الإنسان بواسطة أكل طعام به سموم فطرية وهذا يحدث في حالة نمو العفن السام على المحاصيل.

على وجه العموم تتعرض الحيوانات للسموم الفطرية مباشرة عن طريق استهلاك مواد العلف المصابة بالعفن، تلامس الجلد مع مواد مصابة وملوثة بالعفن، استنشاق الجراثيم السامة. أما تعرض الإنسان للسموم الفطرية قد يكون من خلال أحد طريقين: التعرض المباشر نتيجة استهلاك منتجات النبات المصابة، أو التعرض غير المباشر عن طريق استهلاك المنتجات الحيوانية المحتوية متبقيات من السموم الفطرية من طعام الحيوانات.

كثير من السموم الفطرية مثل trichothecene تظل سامة حتى بعد طهيها، وقد يظل هذا المركب ساما لسنوات عديدة حيث وجد أن الضوء فوق البنفسجي U.V light ودرجة حرارة التجميد ليس لها تأثير كبير على trichothecene.

طبقاً لنصائح الخبراء أن الشخص الذي يتعرض للسموم الفطرية يجب أن يستحم لفترة طويلة من الوقت، ويغسل نفسه تماماً بالصابون والماء، كما يجب غسيل شعره بالشامبو بقدر الإمكان حيث أن الشعر قد يحتجز كمية كبيرة من السموم الفطرية، ومن الناحية المثالية يقوم الشخص بقص شعره. وبالطبع قبل عمل تلك الأشياء يكون الشخص في حاجة لترك البيئة التي تعرض من خلالها للسموم الفطرية بمعنى

أن يترك المكان فى حالة نمو العفن الأسود السام ولا يعود إذا لم يتم حل المشكلة.

معظم السموم الفطرية من العفن السام فى البيوت فى العادة تتواجد متداخلة فى السجاجيد. وعند السير فوق السجادة فإنه يتم إثارة وتحريك كثير من جسيمات السموم الفطرية فى الهواء مصاحبة لجراثيم ومواد أخرى مسببة للحساسية. ولا توجد طريقة للتخلص من كل السموم الفطرية من السجادة والرأى الوحيد هنا هو التخلص من السجادة واستبدالها.

تنظيف السجادة بواسطة الشفط باستخدام filtered vacuum لا يمتص كل السموم الفطرية المتداخلة فى السجادة. وفى حالة أن الـ vacuum cleaners يمكن أن تمتص جراثيم العفن فإن السموم الفطرية الأصغر سوف تمر إلى الخارج وتزيد كمية السموم الفطرية فى الهواء.

الباب الحادي عشر
كيمياء ومكافحة السموم
الفطرية

Chemistry and Control of
Mycotoxins

الباب الحادي عشر

كيمياء ومكافحة السموم الفطرية

Chemistry and Control of Mycotoxins

تم التعرف على كثير من الأنواع المسببة للعفن على أنها جواهر تسبب التلف لكثير من أنواع الطعام المختلفة وعلف الحيوانات. نمو العفن الفطري يكون مصحوباً بتغيير في اللون، الملمس والنكهة، وكثير من ميثابوليت العفن لا يمكن تداوله نظراً لأنه عالي السمية. عند تعريض مخلوط معقد من أفلاتوكسينات حتى 20 بقعة فلوريستنت على TLC، ظهر مكونان رئيسيان أحدهما أزرق فلوريستنت (Fluorcent Blue)، والآخر أخضر فلوريستنت عند تعرضها إلى UV light هما أفلاتوكسين B, G، وكل مركب منهما يشكل مركبان آخران تختلف في قيمة R_{f0} على TLC هم: B1, B2, G1, G2 بترتيب تنازلي في قيمة R_{f0} . وضح من طيف امتصاص UV, IR أن هذه المركبات الأربعة قريبة من بعضها الآخر. التركيب الكيميائي لها يوضح وجود حلقة لاكتون في نظام vinyl ether، مجموعة ميثوكسيل وغياب مجموعة هيدروكسيل حرة.

Aflatoxin B1 يمتص 3 جزيئات هيدروجين على C – Pd ويتكون Aflatoxin B2 (مشتق ثاني هيدرو – B1) وكذلك بالنسبة G2 يمتص 3 جزيئات هيدروجين على C – Pd ويتكون Aflatoxin G2 (مشتق ثاني هيدرو – G1). ولقد تم فصل B1, B2, G1, G2 بواسطة الكروماتوجرافى على silica acid بينما M1, M2 تم فصلها على paper chromatography. و يتضح أن كما سبق أن :

M1 is 4 – hydroxyaflatoxin B1
M2 is 4 – hydroxyaflatoxin B2
B2a is 2 – hydroxyaflatoxin M2
G2a is 2 – hydroxyaflatoxin G2

وهنا أصبح معروفاً 8 مركبات أفلاتوكسين متقاربة تركيبياً منها 4 مركبات مشتقات هيدروكسيلية. المقطع toxin ليس ملائماً دائماً فمثلاً كل من aflatoxin B2a and G2a أظهرت عدم سمية نسبياً حتى عند التركيزات العالية المختبرة:

G2a 1600 µg, B2a 1200 µg (60 الى 80 مرة مثل كميات B1 المميّنة).

شدة الضوء الفلوريسنت للأفلاتوكسين تحت UV light يعطى احتمال لتقديرها عند مستويات منخفضة جداً بواسطة طرق فيزيائية- كيميائية physico-chemical methods فمثلاً حوالى 10^{-4} µg (0.1ng) يمكن اكتشافها بواسطة TLC. أما التركيزات الأقل من جزء فى البليون $1 \text{ µg / kg} = 1 \text{ ppb}$ من أفلاتوكسين B1 يمكن تقديرها بسهولة.

ثبت أن أفلاتوكسين B1 هو الأكثر قوة وفعالية يليه تنازلياً G1, B2 and G2 حيث G2 أقلهم، وكانت حساسية النوع تقل مع العمر فمثلاً LD₅₀ من B1 على البط ذو عمر اليوم الواحد حوالى 18 µg، بينما من G2 (الأقل سمية) حوالى 180 µg. وجد أن قيم LD₅₀ لكل من M1 and M2 قابلة للمقارنة لكل من B1 and B2 على التوالى حيث يسببوا ضرراً متشابهاً فى كبد البط.

التعرض المستمر (المزمن) لفترات ممتدة إلى مخلوط من الأفلاتوكسين أو B1, B2 or G1 النقية يؤدي الى إحداث أورام فى الحيوانات المختلفة، وظهر أن أفلاتوكسين B1 مسبب سرطاني بدرجة قوية عند معدل 2 µg / kg، وظهرت hematoma بعد عام بنسبة 40% عند هذا المعدل فى بعض الحيوانات. أما G1 الأقل قوة الى حد ما يؤدي الى حدوث hematoma بنسبة 10% عند نفس المعدل، 20% عند معدل 8 µg / kg.

ثبت أن الأفلاتوكسين مفيدة جداً كوسيلة عملية لبحث ميكانيكية مسببات السرطان الكيميائية والتي تهتم بالتغيرات البيوكيميائية الخلوية المصحوبة بالاستجابة لسمية الأفلاتوكسين فى النظم البيولوجية الحساسة والتفاعلات تتعلق بالتغيرات فى الحمض النووى وميتابولزم البروتين الناتجة بواسطة التعرض للأفلاتوكسين، ووجد.

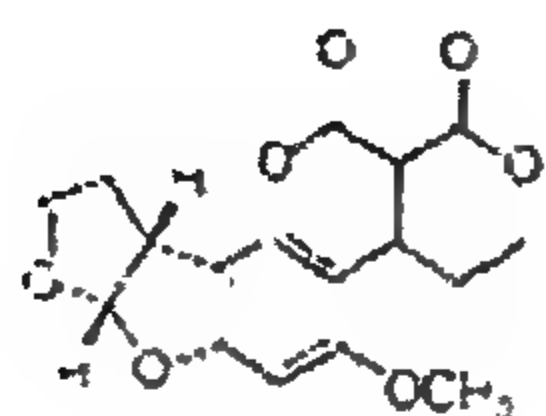
أن إعطاء أفلاتوكسين B1 الى الفئران يليه تثبيط تخليق DNA, RNA فى الكبد، ويتم أيضا تلف وضرر فى تخليق البروتين.

السموم الفطرية mycotoxins من أصل بيولوجى على الرغم من جهود مكافحة التلوث الفطرى فإن الفطريات المسببة للسمية تتواجد فى كل الأماكن الطبيعية وتوجد بانتظام فى جميع مواد الطعام على مستوى العالم بسبب إصابه العفن للمنتجات الزراعية الحساسة مثل الحبوب، المكسرات والفاكهة. أنواع كثيرة من *Aspergillus, Penicillium, Alternaria* مسئولة بدرجة كبيرة عن تدهور الفاكهة والخضروات حيث تنتج سموم فطرية خلال المراحل المختلفة لنمو المسبب المرضى. السموم الفطرية الأكثر شيوعاً والمصاحبة للفاكهة والخضروات ومنتجاتها هي:

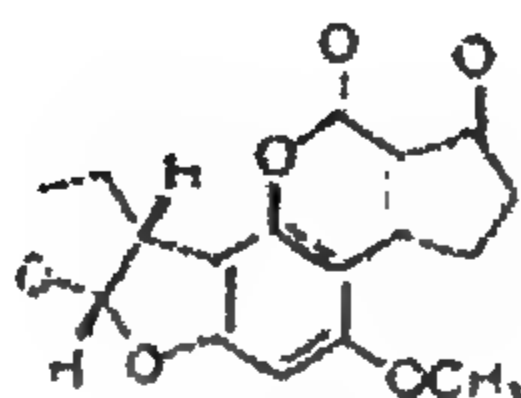
aflatoxins, patulin, ochratoxin A, alternaria toxins
الأفلاتوكسين توجد طبيعياً فى الفاكهة فى المناطق الاستوائية وتحت الاستوائية حيث الظروف البيئية تساعد على نمو الفطريات المنتجة للأفلاتوكسين. الأفلاتوكسين فى التين والبلح كانت مصحوبة بتواجد كل من *Aspergillus flatus, A. parasiticus*، بينما ochratoxin A فى التين كان له علاقة أساساً مع تواجد *A. alliaceus* ، ووجد ochratoxin A فى عصير العنب ومنتجاته الأخرى مصحوباً بتواجد *A. carbonarius* وإلى مدى أقل مع *A. tubingensis, A. niger*.

التركيب الكيميائي للسموم الفطرية في الطعام :

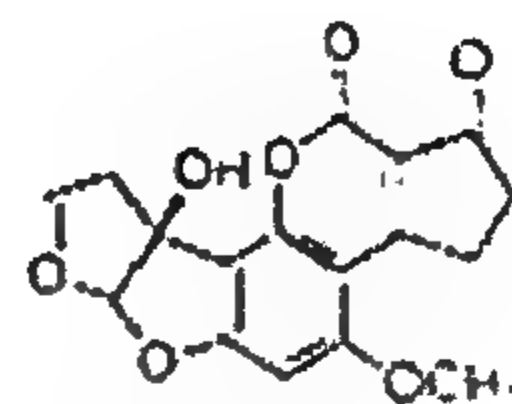
Chemical structures of mycotoxins found in foods



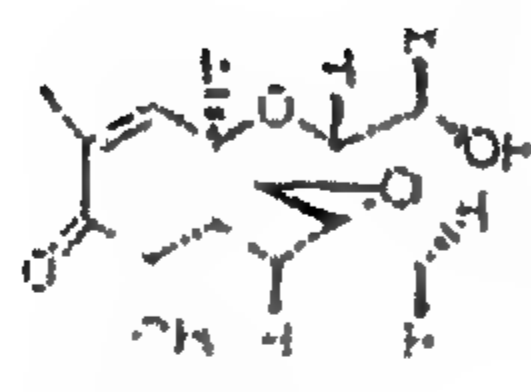
Aflatoxin G₁



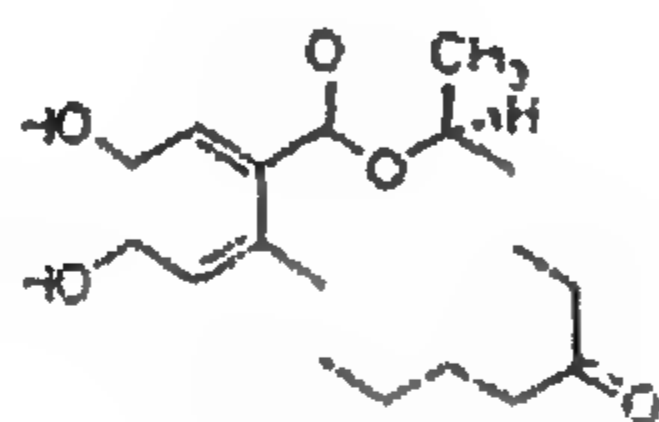
Aflatoxin B₁



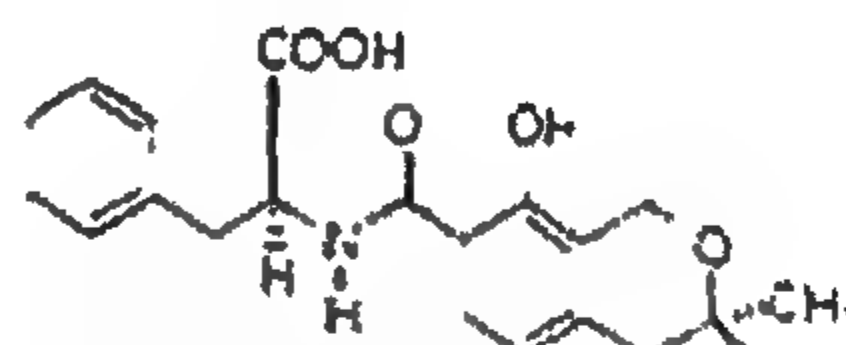
Aflatoxin M₁



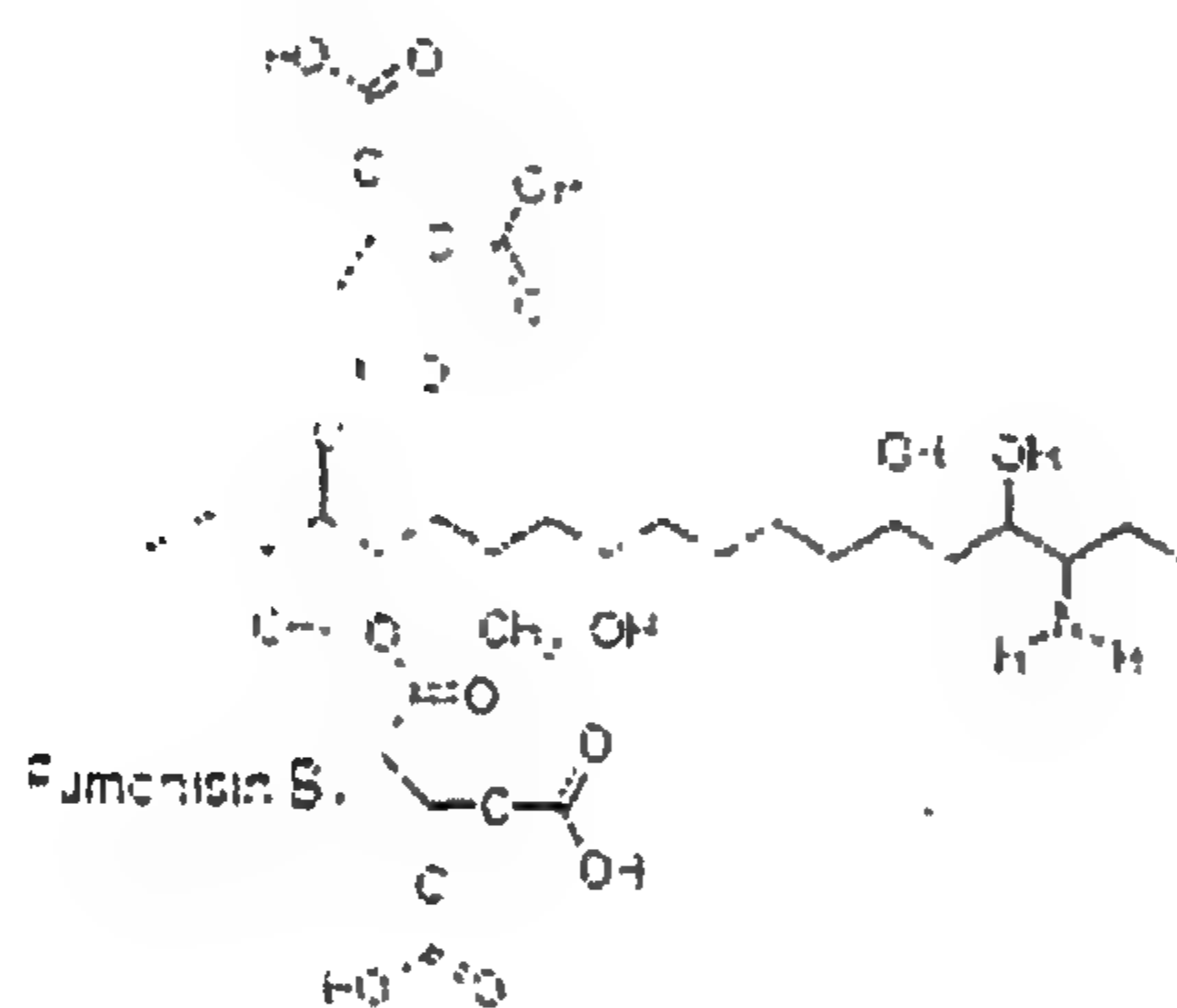
Deoxynivalenol



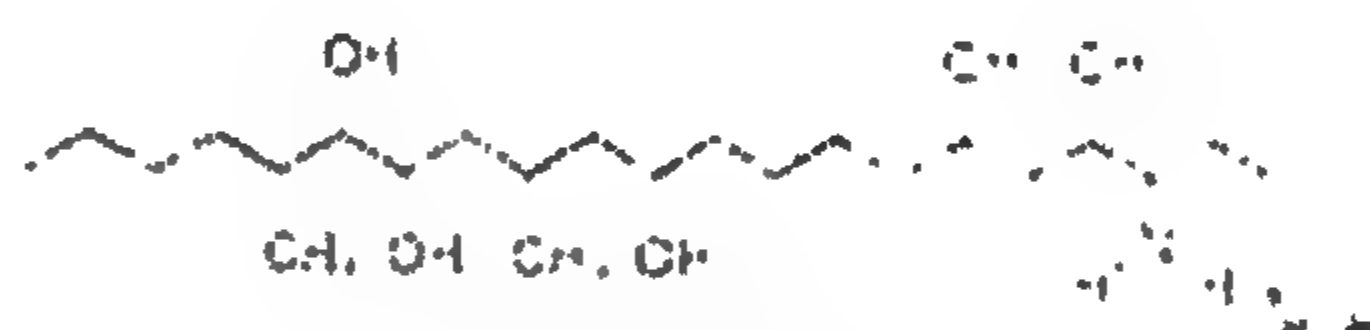
Zearalenone



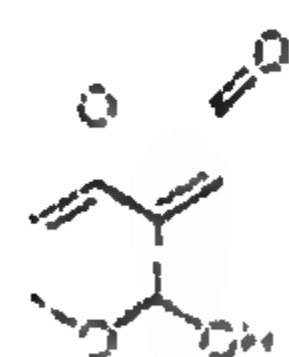
Ochratoxin A



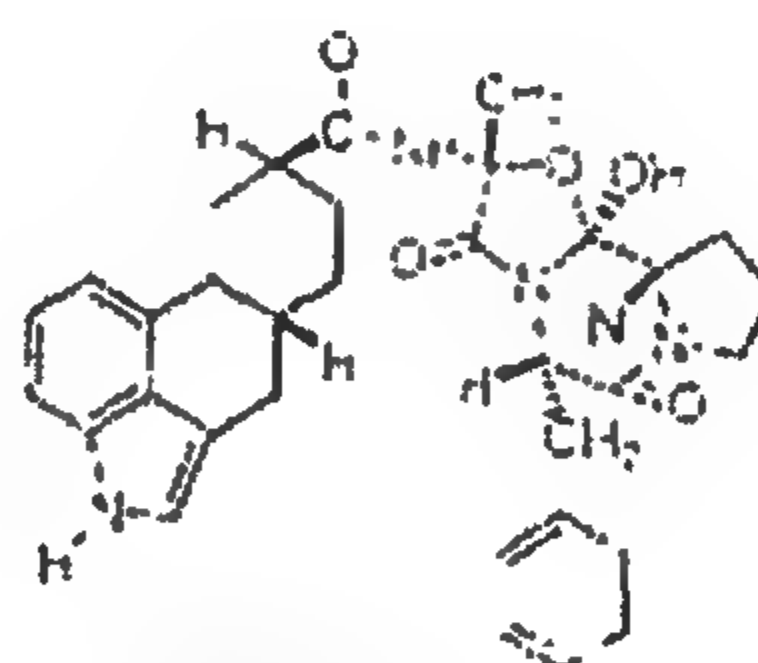
Fumonisin B₁



Hydrolyzed Fumonisin B₁



Patulin



Ergotamine

على المستوى الجفلي فإن نمو العفن الفطري قد يؤدي إلى نقص إنتاج المحاصيل وإنتاجيه حيوانات الحقل نتيجة المرض أو الموت الراجع إلى استهلاك العلف الملوث في صناعة الغذاء ويكون من الصعوبة تحطيم السموم الفطرية بواسطة عمليات تصنيع الطعام العادية بسبب

المقاومة بدرجة عالية والكشف عنها معقدا نتيجة القصور في طرق التحليل. في مكان التسويق فإن السموم الفطرية قد تكون عقبة للتجارة الدولية تؤدي الى زيادة التنظيمات الخاصة بالأغذية والأعلاف التي قد تحتويها وإزالتها من سوق السلع.

تتراوح التأثيرات من التأثيرات الحادة (مثل تلف الكبد، الكلى) إلى التأثيرات المزمنة (مثل سرطان الكبد) (mutagenic, teratogenic effects) وأعراض مثل التهابات الجلد، وقف المناعة والتأثير على الولادة والسمية العصبية والموت.

أفلاتوكسين B1 (AFB1), fumonisins, patulis من الشك أنها تسبب سرطان للإنسان، Deoxynivalenol، trichothecenes بالإضافة إلى AFB1 من المحتمل تسبب تأثيرات موقفه للمناعة، أما fumonisin B1 (FB1) يساهم في تلف الأنابيب العصبية، والخلل الوظيفي للكلية يرجع إلى التعرض إلى ochratoxin A

العوامل البيئية تؤثر على وجود السموم الفطرية في المواد الخام والمخزنه:

التحكم في تلوث الغذاء بالسموم الفطرية يتم من خلال التحكم في نشاط الماء، الـ PH، مكافحه نوعيه للمواد الفعاله، الوصول الى حبوب معدله وراثيا مع زياده مقاومه الحشرات، خفض معدلات الاصابه الفطريه عن طريق تحسين إدارة نوعيات البذور.

تأثير السموم الفطرية على إنتاج وصناعة الغذاء:

Mycotoxic Impacting Food Production and Manufacturing

Patulin:

أثبتت الدراسات الحديثه أن الـ patulin ليس له تأثير سرطاني ولكن توجهت الدراسات إلى genotoxicity. كثير من الابحاث تمت على ثبات الـ patulin أثناء تجهيز عصير التفاح. أو أن عملية الترشيح لتنقيه العصير وتركيزه تقلل مستوى الـ patulin حتى 40%. ولقد لوحظ أن هذا المركب غير ثابت أثناء تخمر عصير التفاح إلى cider وقد تم تحطيمه كلية بالمعامله بثاني أكسيد الكبريت (0.125%). أما

العمليات الحرارية لعصير التفاح وجد أنها لا تؤثر في الـ patulin ولكن قد يتم تحطيم جزئي باستعمال درجة حراره بستره عاليه لوقت قصير كذلك يعتقد ان PH عصير التفاح يغير حراره ثبات الـ patulin وعلى ذلك يجب التحكم في كل الظروف قبل الدخول في عمليات قياس التحكم والمكافحه.

Ochratoxin (OTA)

يوجد Ochratoxin في انواع كثيره من الطعام بسبب انه ينتج بواسطة سلالات فطريه مختلفه من انواع *Penicillium*, *Aspergillus* عموماً وجود الكلور في تركيبه يجعله فريداً ويعتبر هذا المركب:

Nephrotoxic , teratogenic and immumotoxic
وتم تصنيفه class2 B carcinogen من المحتمل يكون مسبب سرطاني للأسنان ويوجد الـ ochratoxin في كثير من المصادر مثل الحبوب، الخمور، عصير العنب، القهوة والخزير وبسبب هذا التنوع الكبير من المواد التي تحتوى الـ ochratoxin لا توجد طريقه عالميه مناسبة للتحليل حيث تختلف ظروف الاستخلاص والتنظيف باختلاف الغذاء.

ويعتبر هذا المركب أحد المجاميع الرئيسية من السموم الفطرية بعد اكتشاف الأفلاتوكسين، ويوجد OTA في كثير من منتجات الطعام النباتية مثل الـ cereals وبسبب فترة نصف العمر الطويلة له فإنه يتراكم في السلسلة الغذائية. يمتص OTA بطريقة غير مؤثرة في القنوات الهضمية لكنه يمتص بشدة في الكلى kidneys. وقد يتواجد أعلى الكميات من OTA في الدم وتوزع في الكلى، الكبد، العضلات والأنسجة الدهنية في ترتيب تنازلي. يفرز السم أولاً في البول وإلى أقل درجة في الصفراء bile وأيضاً في اللبن. وجد أن فترة نصف العمر للـ OTA عن طريق الفم من OTA عن طريق في الوريد .

دراسة علاقة التركيب بالفاعلية تقترح أن سمية OTA قد ترجع الى isocoumarin moiety and lactone carbonyl group

المركب. وجد أن OTA يقلل تحول الجينات المختلفة المنظمة بواسطة الـ (Nrf2) nuclear factor-erythroid 2p45-related factor و يقلل تحول الإنزيمات المضادة للأكسدة antioxidant enzymes بواسطة تثبيط Nrf2. سمية OTA تساعد في تطور أمراض الكلى بواسطة إنتاج الضغط المؤكسد oxidative stress. وجد أن التعاطي المزمن chronic administration لجرعة منخفضة من OTA تسبب تغيرات مورفولوجية ووظيفية في الـ proximal tubules ووجد أن تناول مستخلص البلح (التمر) يحمي ضد الضرر الناتج في tubule's tissue الناتج من OTA.

على الأحوال فإن المعاملة بمضادات الأكسدة فشلت في منع تطور الأورام الناتجة بواسطة OAT في الحيوانات. ووجد أن مركب indomethacin والأسبرين تمنع السمية الوراثية genotoxicity بواسطة OAT في المثانة البولية والكلى في الـ mice. كما وجد أن OAT يسبب فقدان (نضوب) الـ striatal dopamine والميتابوليت الخاص به.

وعلى ذلك فإن OTA له ميكانيكية تأثير معقدة تشمل:

- oxidative stress
- bio – energetic compromise
- mitochondrial impairment
- inhibition of protein synthesis
- production of DNA single strand breaks
- formation OTA – DNA adducts.-

ومن ذلك يكون OAT يحفز سمية وسرطان الكلى، سمية وأضرار للميتوكوندريا، انفجار تأكسدي، التداخل مع oxidative phosphorylation، كذلك OAT يكون معقداً مع أيون الحديدك (Fe^{+3}) ويسهل اختزاله.

OAT يؤثر على النظام المناعي في عدد من الثدييات، ونوع هذا الوقف المناعي immune suppression يعتمد على عدد من العوامل مثل: الأنواع الموجودة، طرق التناول، الجرعات المختبرة، والطرق المستعملة للكشف عن التأثيرات.

OAT يسبب immune suppression قبل الولادة prenatal وبعد الولادة postnatal وطول حياة البالغ adult .

النشاط السام المناعي بواسطة OAT في العادة ينتج من تغيرات التحلل degenerative change وموت الخلايا بعد necrosis and apoptosis مع الإحلال البطيء لخلايا المناعة المتأثرة وذلك نتيجة تثبيط تخليق البروتين. وعلى ذلك فان تثبيط تخليق البروتين، oxidative stress، وتنشيط طرق خلايا الإشارة النوعية activation of specific cell signaling pathways تكون المسنولة عن التأثير السرطاني لـ OAT.

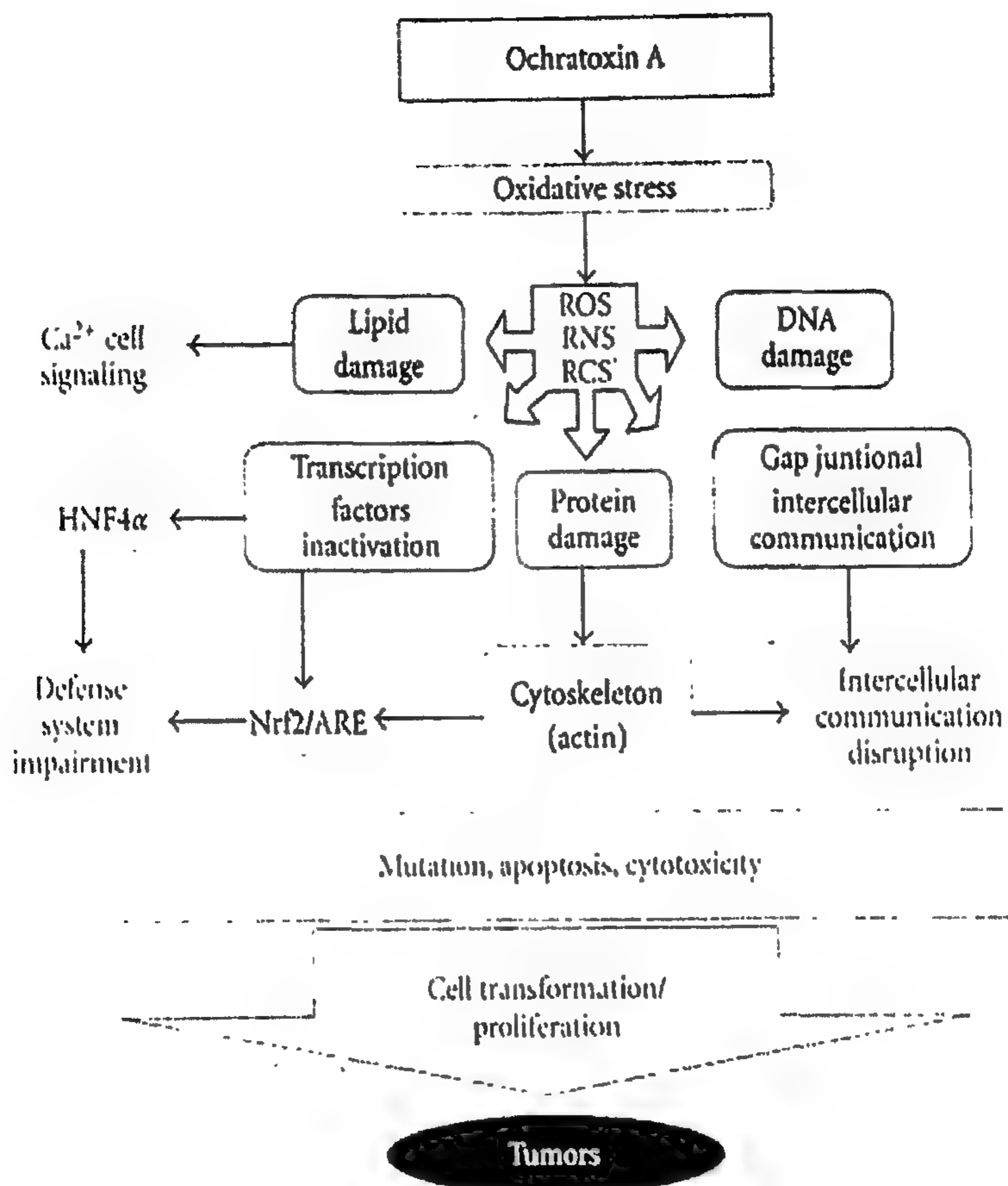
عموماً الـ oxidative stress تؤدي الى زيادة انتاج كل من :

- Reactive Oxygen species (ROS).
- Reactive Nitrogen species (RNS).
- Reactive Carbon species (RCS) .

السمية الخلوية وانتاج تلك الأنواع النشطة كيميائيا هو تعبير عن ميكانيكية تأثير السموم الفطرية. ROS هي جزيئات نشطة كيميائيا تحتوي إكسجين عالي الفعالية نتيجة وجود زوج الكترونات غير مشارك unpaired electrons، وتتكون ROS كنواتج ثانوية طبيعية لميتابولزم مركبات الإكسجين ولها دور هام في signaling and homeostasis .

على أي الأحوال أثناء وقت الشد البيئي فان مستوى الـ ROS يزيد بطريقة مثيرة نتيجة الـ oxidative stress والذي يحدث عندما يصل تركيز ROS الناتجة إلى قدرة مضادات الأكسدة في الخلية.

شكل (8) يوضح الـ oxidative stress في الطريقة المقترحة لتأثير OAT.



طريقة التأثير السام لـ ochratoxin A (OTA) من خلال عملية oxidative stress ويتضح أن كل من ROS, RNS, RCS تنتج أساساً من تفاعلات أكسدة واختزال مباشرة تشمل OTA أو من خلال تثبيط الدفاع الخلوي مثل تثبيط عوامل الاستنساخ transcription factors مثل Nrf2 الذي ينظم الإنزيمات ذات الخواص المضادة للأكسدة. إنتاج الأصول سوف يحفز التلف التأكسدي للجزيئات الكبيرة مثل أكسدة قواعد الـ DNA قد تتحول الى طفرات منتجة خلايا متحولة transformed cells. الأصول

النتيجة أيضاً سوف تثير الاستجابة البيولوجية التي قد تضعف الاتصالات بين الخلايا وتحفز التكاثرات الخلوية ونقص الدفاع الخلوي، وكل ذلك سوف يؤدي في النهاية الى ظهور السرطان. ويمكن تلخيص ذلك من خلال:

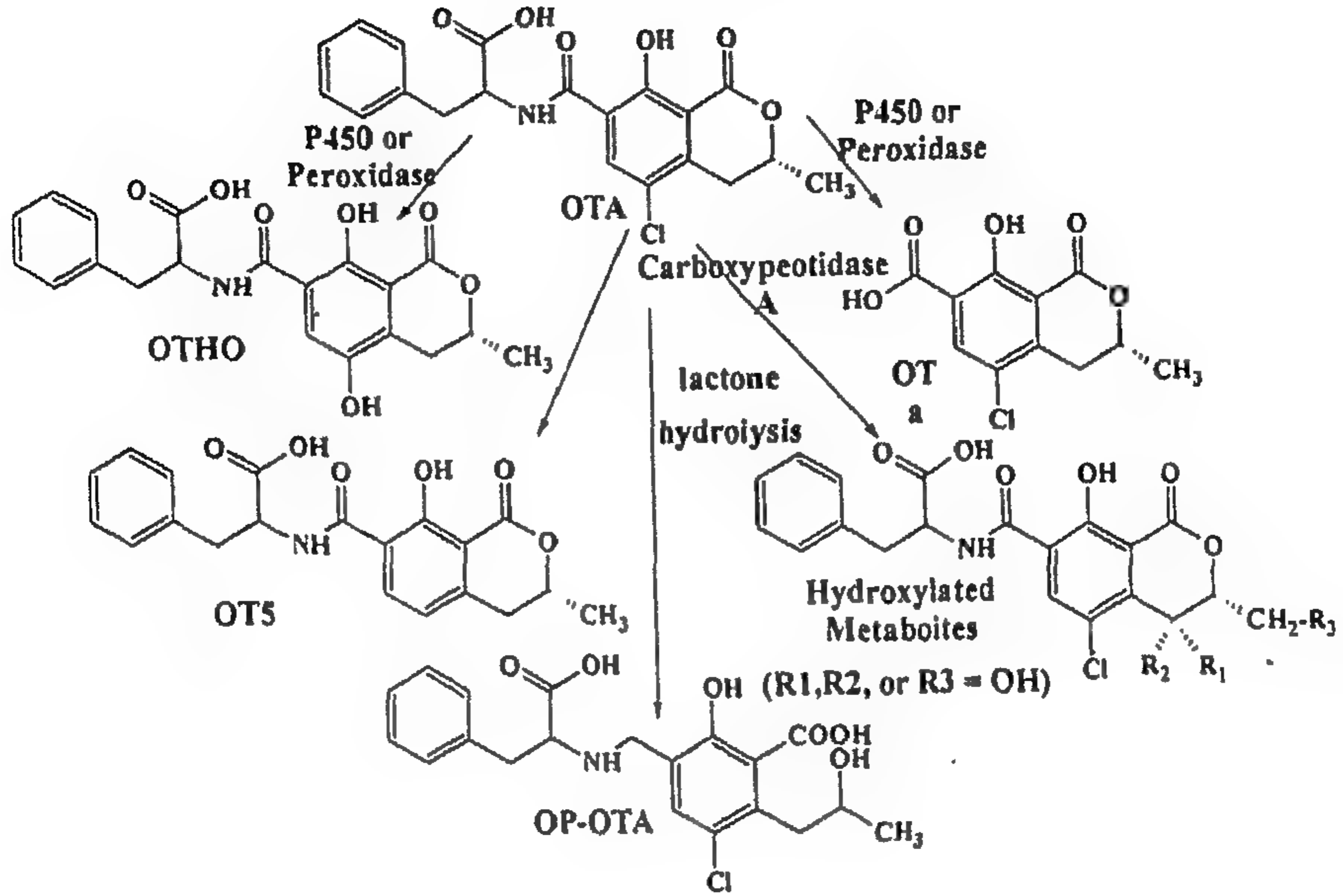
- تحطيم الـ DNA
- تحطيم الليبيدات — Ca^{2+} cell signaling
- تحطيم البروتين — Cytoskeleton (actin) —
- Intercellular communication disruption
- Defense system — HNF4 α — Transcription factors impairment inactivation
- Mutation – apoptosis cytotoxicity
- Cell transformation proliferation
- Tumors

وكما هو معروف أن Ochratoxins تؤثر على الأنزيمات المصاحبة لميتابولزم فينايل ألانين حيث تثبط الانزيم المصاحب لتكوين معقد الـ phenylalanine-tDNA وقد يتداخل ochratoxins أيضاً مع الانزيمات التي تستعمل الفينايل ألانين لمادة تفاعل، مثلاً انزيم phenylalanine hydroxylase التي يساعد العملية غير العكسية بإضافة هيدروكسيل إلى فينايل ألانين إلى تيروسين. بالإضافة لذلك فإنه يغير نظام الانتقال خلال غشاء الميتوكوندريا ويثبط إنتاج ATP ويشجع عملية membrane lipid peroxidation وتكوين أصل الـ superoxide and hydrogen peroxide.

وعلى ذلك فإن الميتابوليت الرئيسي هو ochratoxin A هو ناتج التحلل المائي بواسطة بكتريا القناة الهضمية بدون جزء الفينايل ألانين. والميتابوليت الآخر هو المشتقات الهيدروكسيلية hydroxylated derivatives مثل:

4(R)-, 4(S)- and 10-OH –ochratoxins

ميتابولزم OTA



تأثير العمليات على إل ochratoxin A الملوث للغذاء غير مفهومه جيداً:

إزالة وطحن القمح (لإزالة الطبقات الخارجية لإنتاج دقيق القمح) تقلل مستويات الـ ochratoxins. ولقد وجد توزيعاً متساوياً للـ ochratoxin A ما بين أجزاء الردة والدقيق بواسطة الطحين الجاف للقمح والشعير. ووجد أن هذا المركب ثابت نسبياً أثناء العمليات الحرارية وعلى أى الأحوال مستويات المادة السامة قلت بنسبة 70% - 96% أثناء تحميص حبوب القهوة وقلت بنفس النسبة أثناء عملية إزالة الكافيين.

Zearlenone

انتشار الـ Zearlenone Mycotoxicosis فى الحيوانات الحقلية يسبب عدم الخصوبة. وهذه المادة السامة توجد تماماً فى الحبوب وبكميات متغيره بدرجة كبيره تتراوح من ng/gm بدرجة قليلة إلى آلاف من ng/gm.

ظهور العفن الفطري على حبوب النباتات لا يعتمد على تنبيه إنتاج المادة السامة وذلك بسبب أن الحبوب المصابة بالفئوزارييم ليس من الضروري ظهور العفن بشكل واضح في وجود تركيز عالي من السموم الفطرية. لقد تم تقدير الكمية المتناولة من الـ zearalenone بواسطة الإنسان كانت تقريباً $0.02 \mu\text{g/kg/body weight/day}$ على أساس متوسط البيانات المتحصل عليها من كندا والولايات المتحدة والدول الاسكندنافية، ولكن من المحتمل أن هذه الكمية تكون أكبر في الدول في المناطق التي فيها نظام تخزين للحبوب غير متحكم فيه.

ورجد أن الـ Zearalenone له سمية وراثية genotoxicity وهذا المركب له صفات هرمونية estrogenic يسبب إنتاج كروموسومات شاذة في بعض خلايا السلالات الليمفاوية lymphocytes، خلايا البيض oocyte وخلايا الكبد عندما يتواجد في مدى $0.1-20 \mu\text{M}$ وبتقدير ما يتناوله الإنسان تقريباً كان $1-2 \mu\text{g}$ لكل شخص، وتركيز تواجده في الدم أو الأنسجة يقترب جداً من 0.1 M ($30 \mu\text{g/L}$ تقريباً وهو تقدير بعيد الاحتمال. أحد المشتقات هو α -Zearalenol له تأثير estrogenic أقوى 3 مرات. التأثير على الأستروجين يعتمد على التشابه التركيبي بين zearalenone ، estradiol والأخير هو أحد الهرمونات الجنسية الهامة من مجموعة الـ estrogens في الإناث.

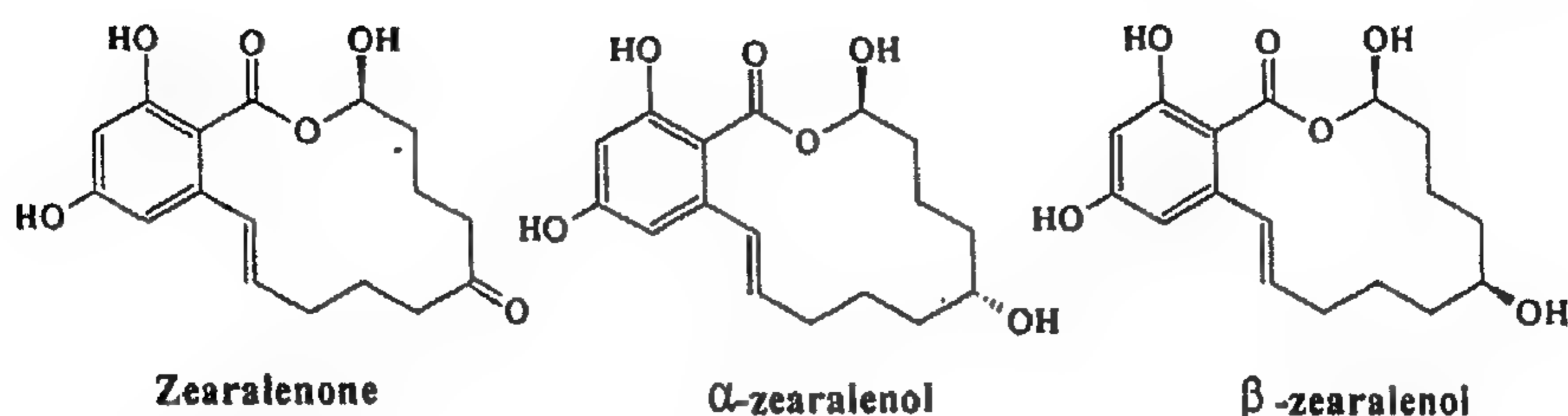
التحول الحيوي للـ zearalenone يحدث في طريقتين أساسيتين :
- إضافة هيدروكسيل hydroxylation وتكوين :

α - zearalenol and β - zearalenol وقد يكون ذلك بمساعدة

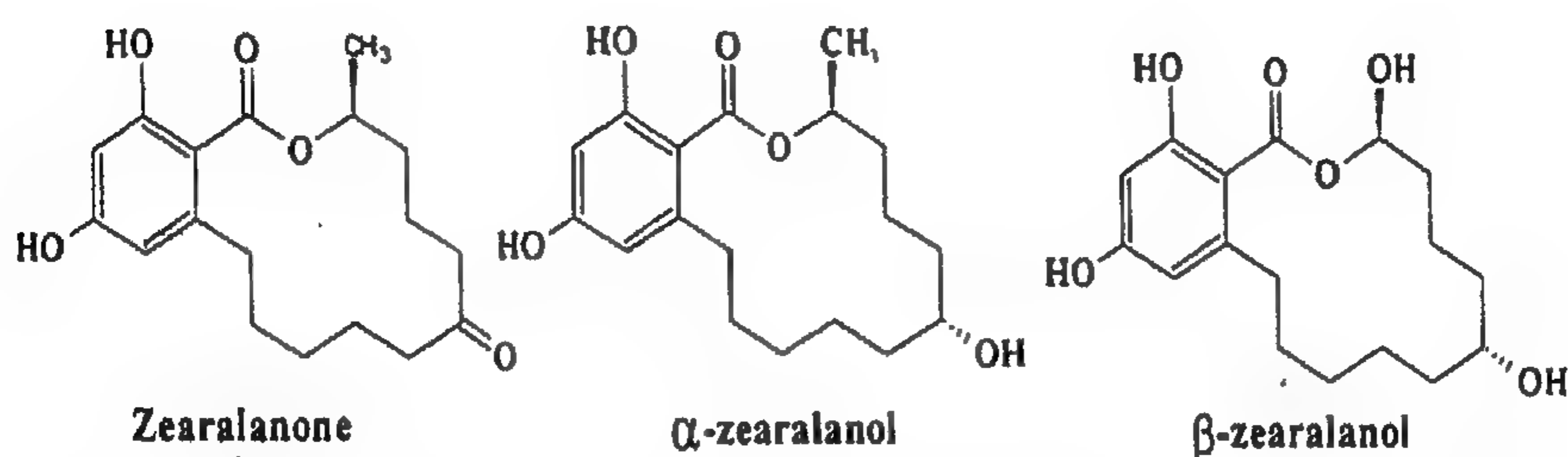
3α -and 3β - hydroxoy- steroid dehydrogenaseHSDs)

- الارتباط التبادلي conjugation للـ zearalenone ونواتجه الحيوية metabolites مع الـ glucuronic acid بمساعدة uridine diphosphate glucuronyl transferase (UDPGT).

لقد أوضحت دراسات مختلفة إختلافات في التحول الحيوى للـ zearalenone في الأنواع المختلفة ، فوجد أنه يتحول في الخنازير إلى α -zearalenol السائد بدرجة أكبر بينما في الماشية يكون β - zearalenol .



وفي حالة تشعب الرابطه المزدوجه يصبح اسماء المركبات والرموز كالآتى:-

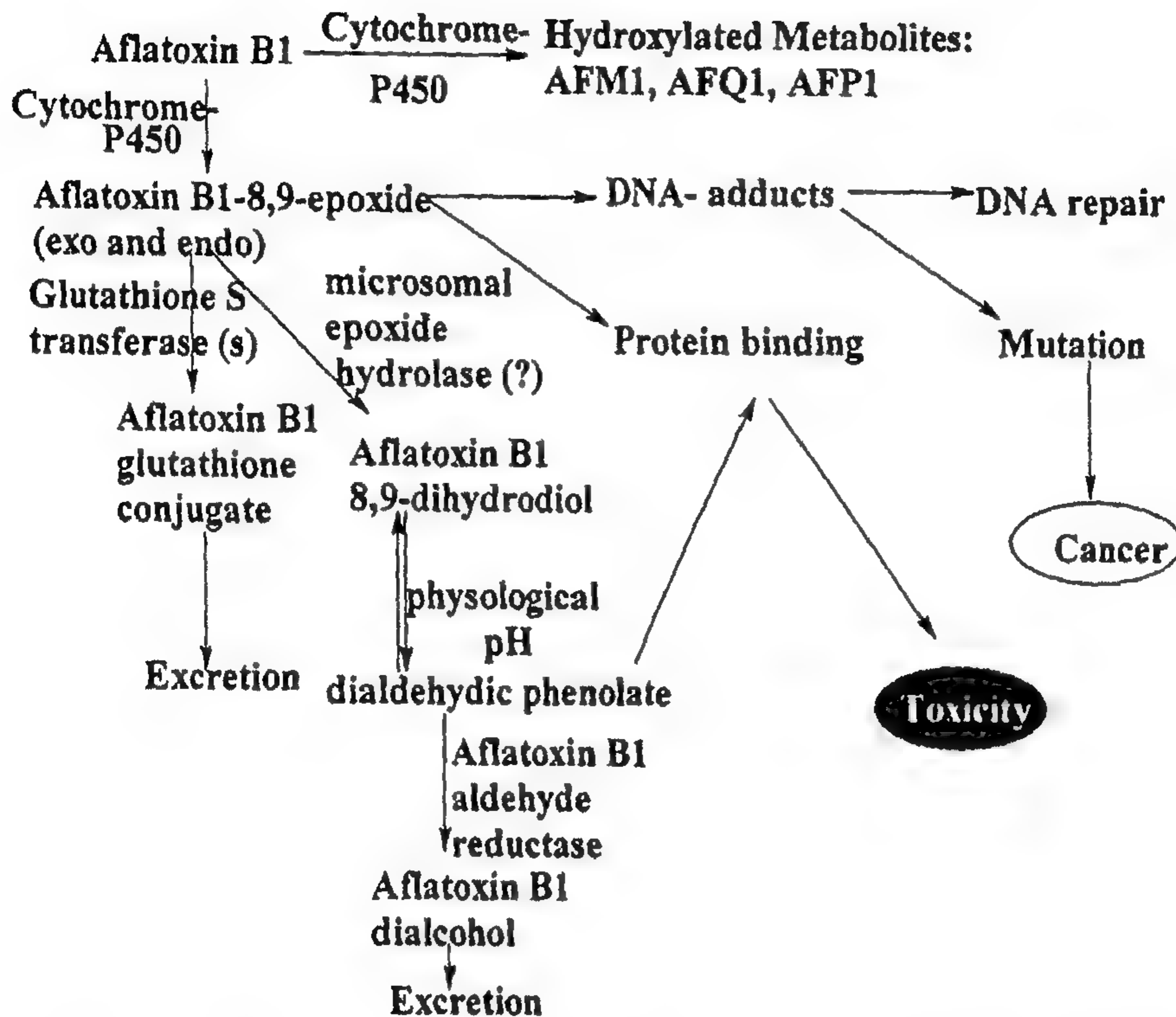


كما وجد أن zearalenone يمر من غشاء الخلية ويرتبط مع إل- estrogen receptor ثم ينتقل هذا المعقد إلى النواة ويرتبط مع nuclear receptor متخصص، وبعد ذلك يحدث estrogenic response من خلال تنشيط جيني وإنتاج mRNA .

Aflatoxins

الأفلاتوكسين قد تلوث كثير من المحاصيل مثل الفول السوداني، الذرة، بذور القطن، الفستق، لب جوز الهند المجفف، التين بمدى واسع من التلوث فى المناطق الحارة والرطوبة فى العالم.

والأفلاتوكسين توجد في صور كيميائية مختلفة يرمز لها بالرموز
B1, B2, G1, G2 and M1
طرق التحول الحيوي لأفلاتوكسين B1: شكل (٩)



B,G ترجع إلى blue or green fluorescence الملاحظة عند
تعرض المادة السامة إلى إشعاع U.V.
M1 هو الميتابوليت الدائم لـ AB1 في اللبن من رضاعة الإنسان
والحيوانات التي تستهلك AFB1 الملوث للغذاء أو العلف أو AFB1
ومخلوطاً من B1, G1, M1 تعتبر مسببات سرطانية
للإنسان. الصيغة الجزيئية للأفلاتوكسين M1 هي $C_{17}H_{12}O_7$
والوزن الجزيئي النسبي هو 328 Da.

AFB1 يتحول بواسطة الكبد خلال نظام إنزيم Cytochrom
P450 إلى AFB1-8-9-epoxide (AFBO) المسبب الرئيسي.

للسرطان أو إلى الصورة الأقل في أحداث الطفرات مثل AFM2, Q1, or P1 كما هو مبين. يوجد طرق مختلفة يسلكها AFBO هي:
أولا : الطريق الأول يؤدي إلى السرطان .
ثانياً: الطريق الثاني يؤدي إلى إحداث السمية.
ثالثاً: الطريق الثالث: الإخراج excretion

- Exo-form-AFBO يرتبط بسرعة مع الجزيئات الخلوية الكبيرة cellular macromolecules مشتملة المادة الوراثية مثل البروتينات والـ DNA لتكوين مركب إضافة وسطي DNA-adducts عن طريق الارتباط عند N⁷- guanine الذي يؤدي إلى طفرات جينية وسرطان، وتوجد دراسات أن AFBO يحفز تحويل الجوانين إلى ثيامين عند النيكلوتايد الثالث.

يمكن تثبيط تكوين AFBO خلال تعطيل نظام cytochrom P450 أو تكوين المركب الوسطى المرتبط وذلك لمنع هذه الطفرات. وفي نماذج حيوانيه فإن إزالة سميه AFBO تتم عن طريق تحفيز glutathione S-transferase (GST) حيث أن هذا الإنزيم يساعد تفاعل ارتباط الجلوتاثيون مع AFBO ويجعله غير مسبب سرطاني، ومن المهم ملاحظة أن الـ mice المقاومة للأفلاتوكسين المسببة للسرطان بها GST بنشاط أعلى من 3 - 5 مرات عن الـ rats الحساسة، أما الإنسان فيحتوى GST أقل نشاطاً عنه في الـ rats. التأثير السام على المناعة Immunotoxicity يظهر على الأرجح نتيجة تعرض الإنسان للـ AFB1 والذي فيه lymphocyte function تقف أو تتأثر بواسطة هذا السم الفطري. ومن ناحية أخرى فإن التحول الحيوي أو الميتابولزم لدخول أى مادة غريبة للكائن xenobiotics هي عملية تؤدي إلى تحويل الجزيء الأصلي إلى مركبات أكثر ذوباناً في الماء hydrophilic تفرز في البول (بواسطة الكلى) أو في الصفراء (بواسطة الكبد). وهذه العملية تحدث في صورتين هما phase I and phase II.

phase I يشمل انزيمات وسيطة للتحلل المائي وتفاعلات الأكسدة و الاختزال بينما phase II يشمل تفاعلات الارتباط conjugation reaction للمركب الأصلي أو المركبات المعدلة بواسطة تفاعلات phase I.

وقد يحدث تحول حيوي مباشر في AFB_1 بواسطة تفاعلات الأكسدة والاختزال أو غير مباشر بواسطة تحولات حيوية للميتابوليت المتكونه.

معظم تفاعلات phase I AFB_1 هي تفاعلات أكسدة في وجود انزيمات Cytochrome P450 (CYP450) ولكن أحد التفاعلات يتم في وجود أنزيم cytosolic reductase لاختزال AFB_1 إلى aflatoxinol (AFL).

phase I يشمل:

1- Hydroxylation and hydration of aflatoxin B₁

مجموعة إنزيمات CYP450s يمكن أن تنتج على الأقل 3 نواتج أحادية الهيدروكسيل من AFB_1 هي: AFM_1 , AFQ_1 , AFB_{2a} .

AFM_1 تم فصله في أول الأمر من لبن الابقار والفئران التي تغذت على فول السوداني الملوث بـ AFB_1 . وفي حقيقة الأمر فإن AFM_1 ينتج بواسطة تحضيرات microsomal liver من الدجاج التي تغذت على وجبات تحتوى 2057ppb من AFB_1 لمدة 35 يوم.

AFQ_1 ينتج من إضافة مجموعة هيدروكسيل عند الموضع 3α في AFB_1 وتم فصله من microsomal liver من القرد.

وجد أن الانزيم السائد المسئول عن تكوين AFQ_1 في إلـ human liver microsomes هو CYP3A4 ويعتبر AFQ_1 هو الميتابوليت الرئيسى من AFB_1 في الإنسان والقروء ولكنه غير أساس في الدجاج والبط.

إضافة جزئ ماء لك (C₈-C₉) vinyl ether double bond في AFB₁ يكون مشتق 8-hydroxy أو hemiacetal المعروف أيضا باسم AFB_{2a} على وجه العموم. فإن الميتابوليت أحادي الهيدروكسيل لك AFB₁ تعتبر إزالة لسمية AFB₁ وذلك في حاله كل من AFB_{2a}, AFBQ₁. ولكن تكوين AFM₁ لا يعتبر إزاله للسمية حيث وجد أن له سمية خلوية cytotoxic ومسبب سرطاني carcinogenic في تجارب مختلفه على البط الصغير وسميته الحادة مشابهه لك AFB₁ (12 and 16 µg/dukling for AFB₁ and AFM₁) على التوالي وهما يسببان أضرار مماثله في الكبد.

2- O-Demethylation of AFB₁

أحد التفاعلات الأخرى في كبد الفئران وخنزير غنيا والأرانب في وجود CYP450 هو 4-O-demethylation of AFB₁ ويتكون ناتج فينولي تم فصله من بول القروود يسمى AFP₁ (P من الكلمه primate وهي نسبة إلى الحيوان الرئيسي من الثدييات). AFP₁ يمكن إضافة مجموعة هيدروكسيل له عند الموضع 9a لتكوين المركب (AFM₁-P₁) 9a-dihydroxy aflatoxin B₁ 4, على الرغم أن هذا المركب يمكن أن يتكون من AFM₁. والمركب AFP₁ يعتبر ناتج إزالة للسمية. بسبب أنه يرتبط بكفاءة مع glucuronic acid.

3- Epoxidation of AFB₁

الـ Epoxidation لرابطة vinyl ether الموجودة في الـ furofuran ring في الـ AFB₁ هو أحد طرق التحول الحيوي لينتج (AFBO) 8,9 - exo - epoxide AFB₁ وهذا المركب غير ثابت عالي الفعالية له فترة نصف عمر حوالى ثانية واحدة في محلول منظم متعادل، وتأثيره السام يكون بواسطة ارتباطه مع المكونات الخلوية وعلى وجه الخصوص المواضع المحبة للشحن الموجبة في البروتين، DNA، RNA. ويعتبر AFBO هو الصورة النشطة المسؤولة عن التأثير السرطاني والطفري لك AFB₁. يتكون

أيضا صورة غير فعالة من AFB1 - endo - 8,9 - epoxide بواسطة ميكروسومات الإنسان والفئران. وبمجرد تكوين AFBO يتحلل مائيا تلقائيا أو في وجود عوامل مساعدة ويتكون (AFB1 - dhd) AFB1 - 8,9 - dihydrodiol أو قد يرتبط مع GSH.

4- Reduction of AFB1

مجموعة الكربونيل على ذرة الكربون C1 الموجودة في الـ cyclopentanone يتم اختزالها الى مجموعة هيدروكسيل ويتكون المشتق المقابل AFL cyclopentanol وهذا التفاعل يتم بمساعدة cytosolic NADPH dependent enzyme، وتكوين AFL لا يعتبر ناتج إزالة لسمية AFB1 فهو مسبب سرطاني وطفرى وهو سام للأرانب وذلك مرتبطا بحساسية بعض الأنواع للـ AFB1. مركب AFL له قدرة على تحفيز تكوين DNA adduct بسبب أن الرابطة المزدوجة بين C₈ - C₉ مازالت موجودة فيه. وفي النهاية فإن ارتباط AFL مع glucuronic acid أو sulfate يعتبر تفاعل إزالة للسمية بقوة بسبب أن هذه الخطوة سوف تمنع AFL من التحول إلى AFB1.

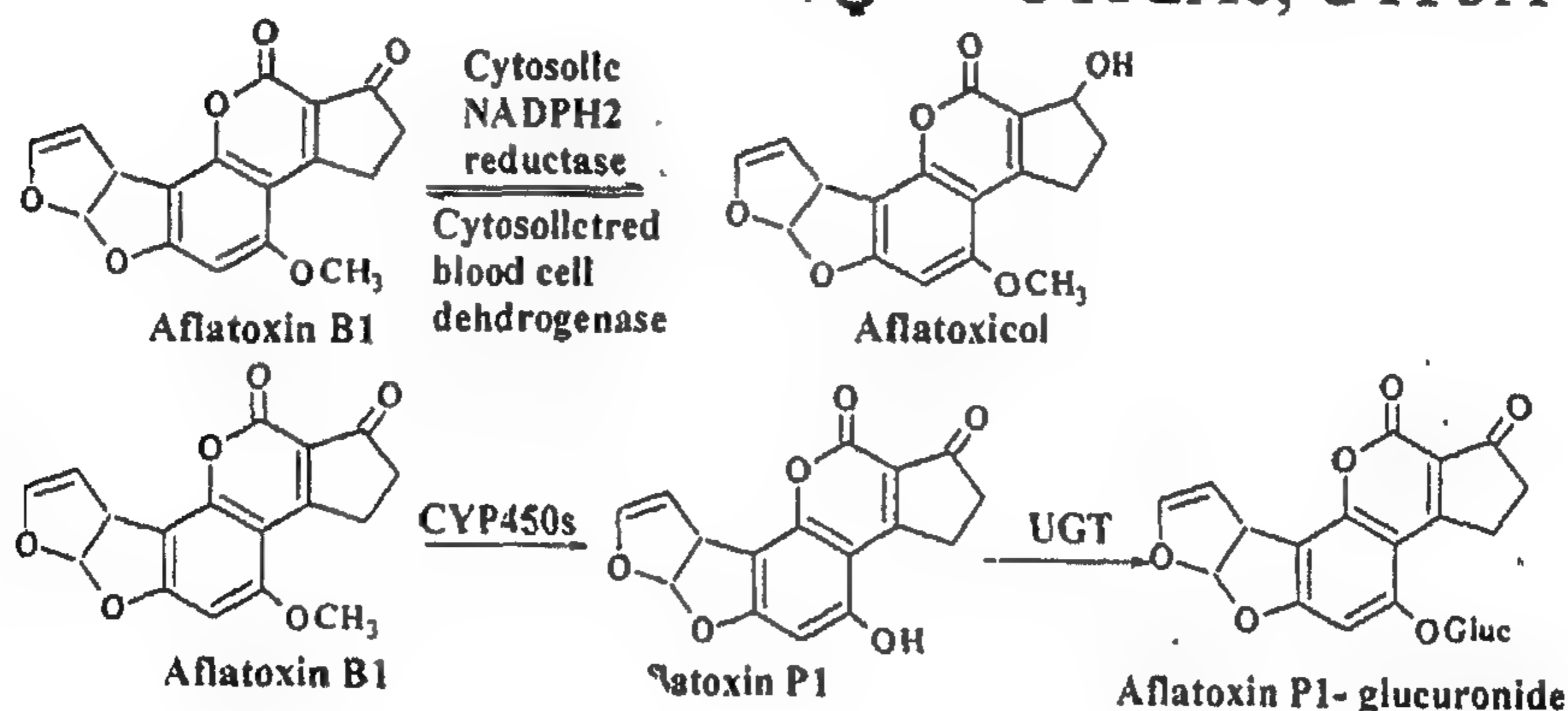
5- Reduction of AFB1 metabolites

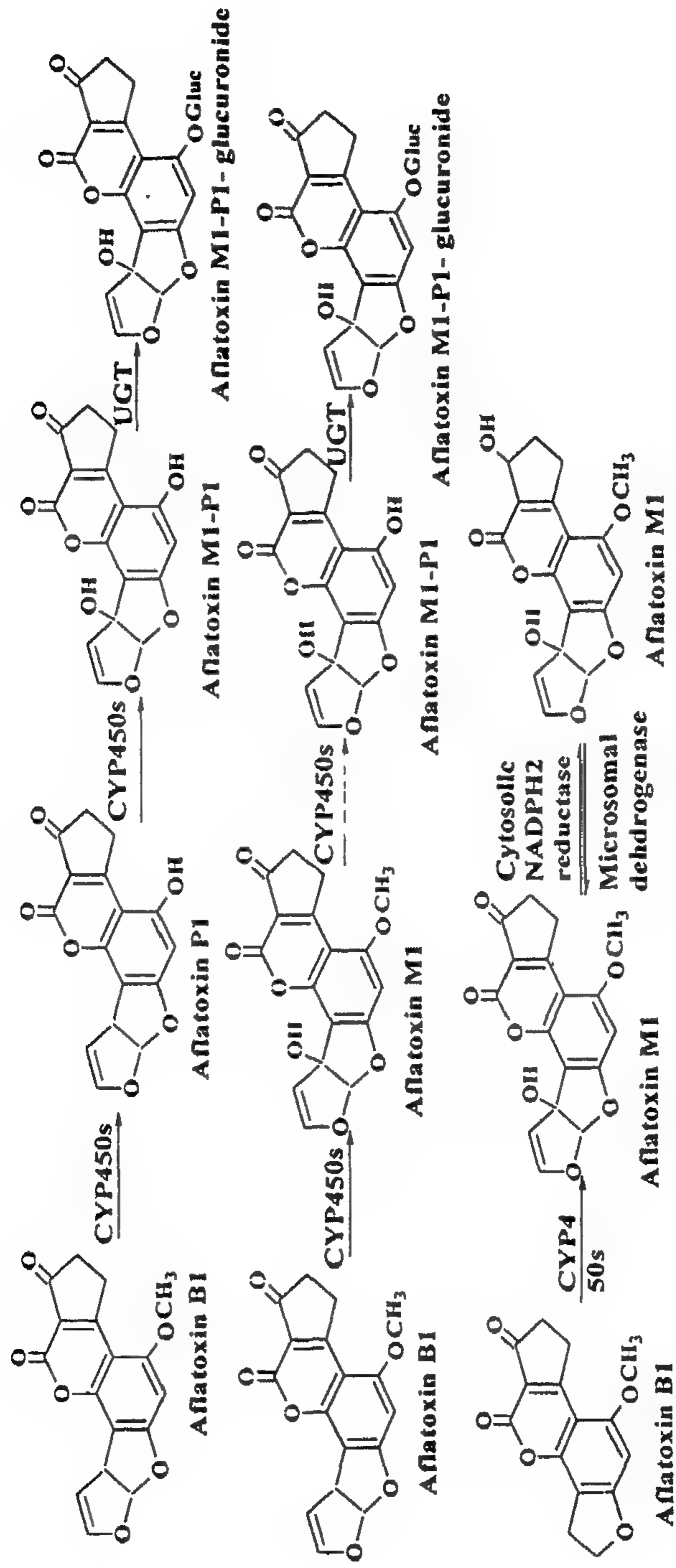
يتم اختزال الـ hydroxylated metabolites مثل AFM1, AFQ1 في تفاعل مماثل لإختزال AFB1 إلى AFL وتنتج ميتابوليت تسمى aflatoxicol M1 and H1 على التوالي. المركب aflatoxicol H1 هو أحد النواتج الحيوية الرئيسية من AFB1 التي تنتج بواسطة كبد الإنسان وأحد أنواع القروود في الهند. المركب aflatoxicol M1 يمكن أن ينتج من AFL ويمكن أن يتأكسد إلى AFM1 بواسطة نشاط انزيم: carbon monoxide - insensitive dehydrogenase المتواجد مع ميكروسومات كبد الإنسان.

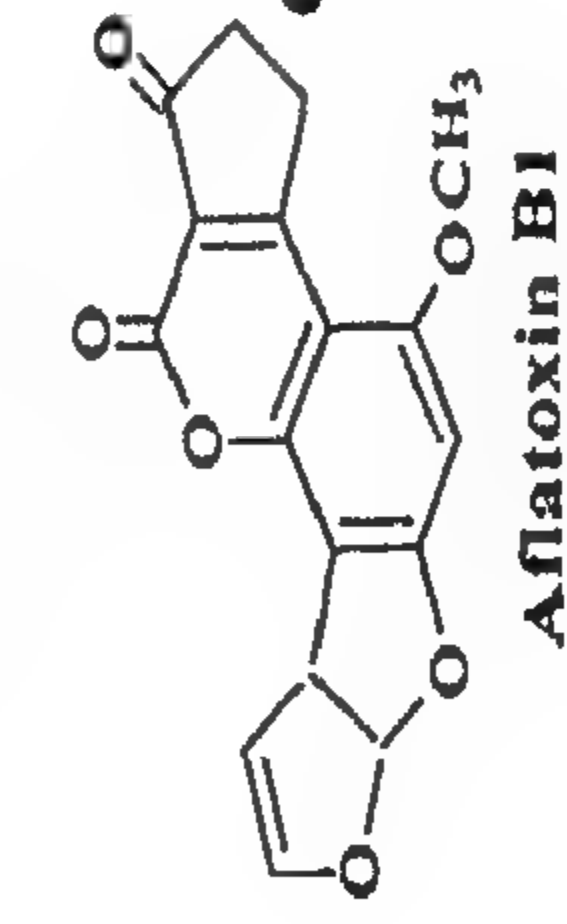
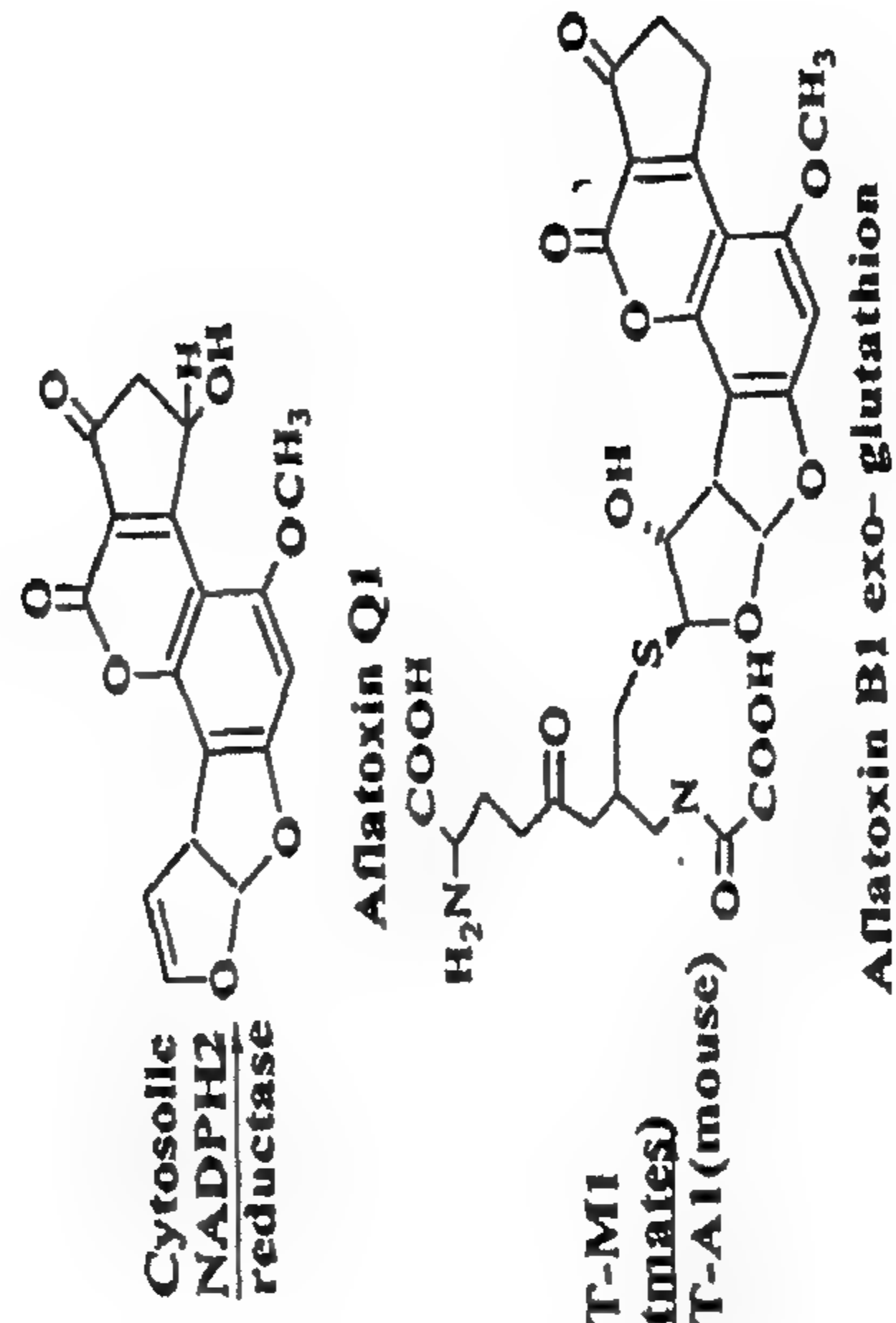
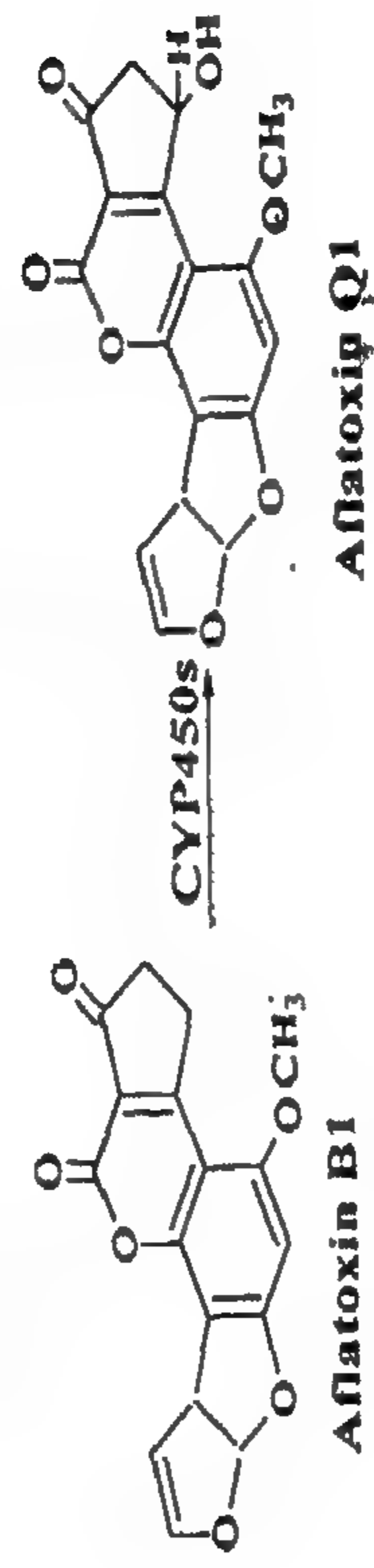
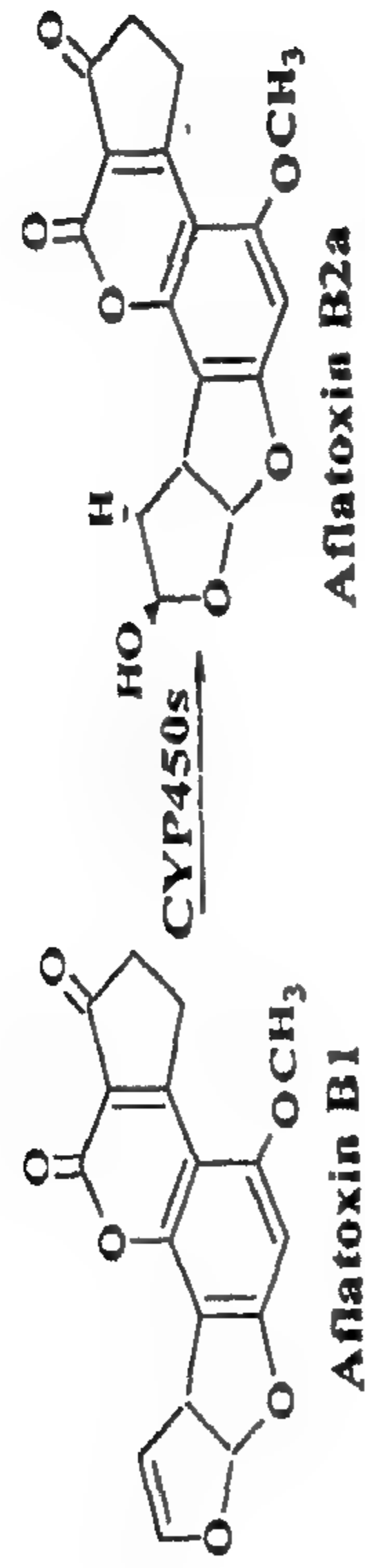
Phase II metabolism of AFB1 :

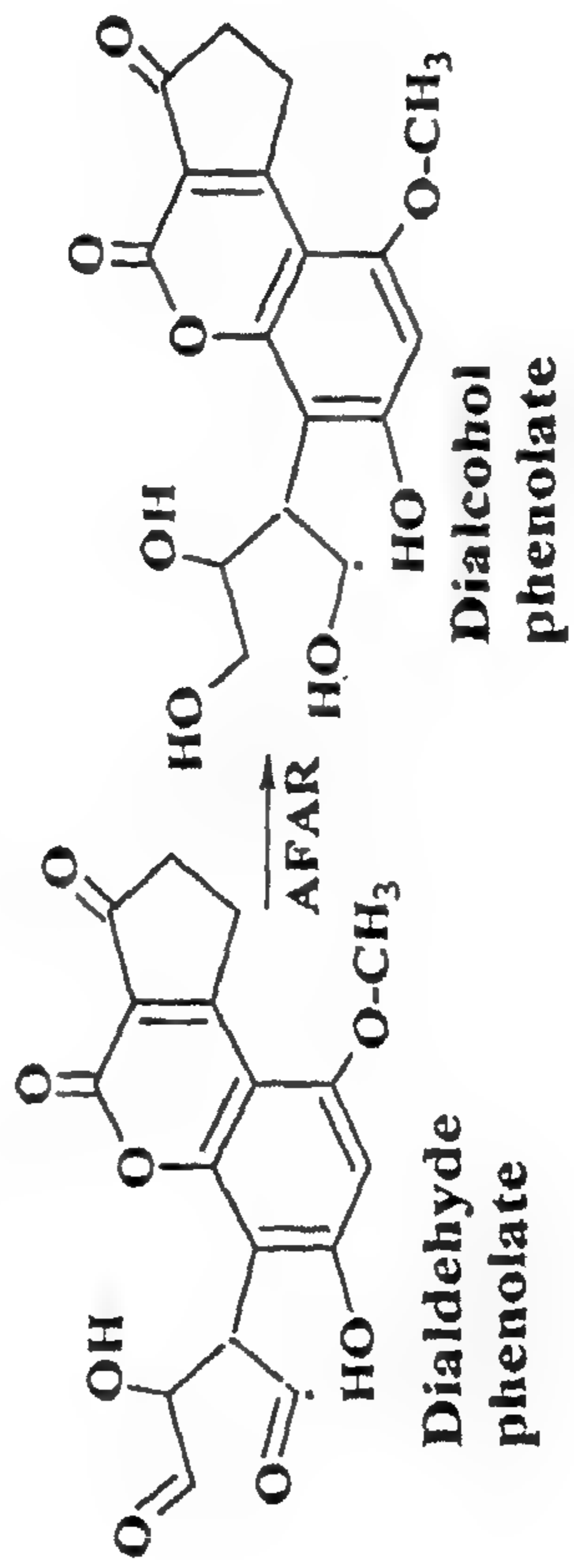
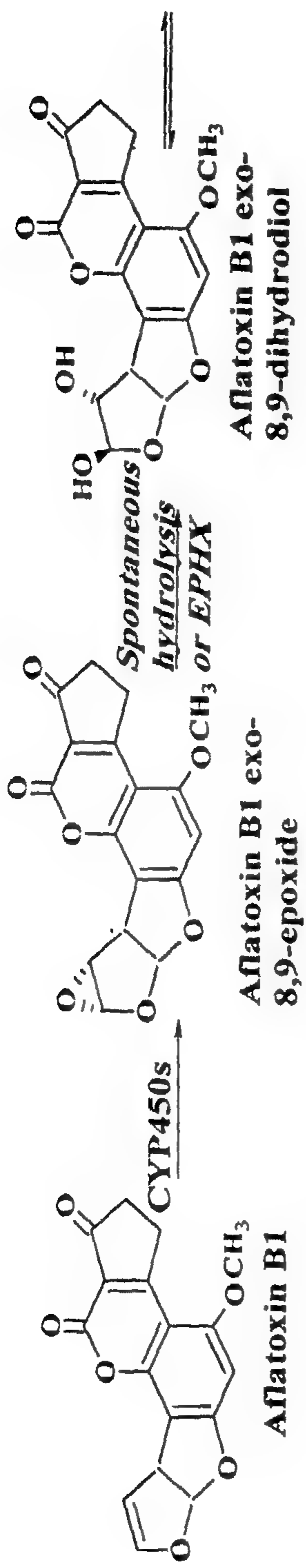
معظم تفاعلات التحولات الحيوية التي تمت في phase II لاى ميتابوليت لـ AFB1 هي عملية ارتباط محب للشحن الموجبة الذي فيها GSH يتفاعل مع الميتابوليت AFBO المحب للشحن السالبة. ويتم ارتباط AFBO مع GSH في وجود انزيمات glutathione transferases. وفي هذه التفاعلات فان أنيون GSH tholate يشارك كجوهر محب للشحن الموجبة. ومن ناحية أخرى يوجد تفاعل ارتباط آخر هو الارتباط التبادلي بين AFP1 و الميتابوليت الناتج منه (aflatoxin M1 - P1) 9a - hydroxy مع glucuronic acid وقد سجل ذلك في الفئران ويؤدي الى إزالة السمية.

ويمكن تمثيل ذلك في المعادلات التالية تفاعلات التحول الحيوى لـ AFB1 في الدجاج والثدييات بما فيها الإنسان. مجموعة CYP450s في هذه التفاعلات تشمل CYP1A1, CYP1A2, CYP2A6, CYP3A4 كالآتي :









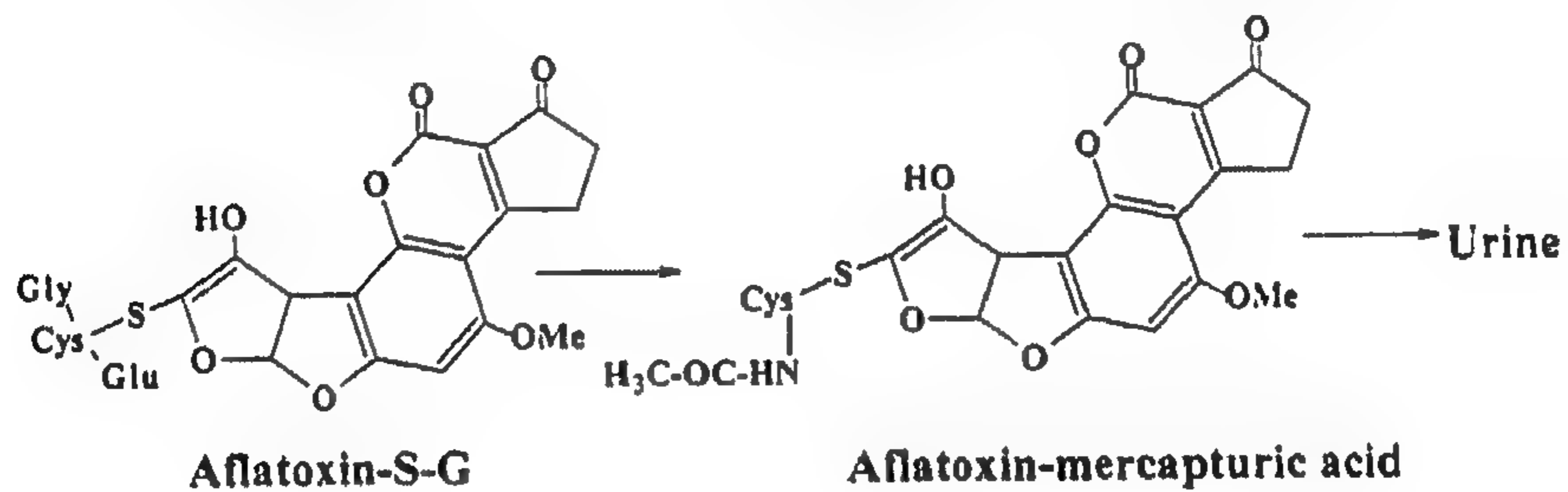
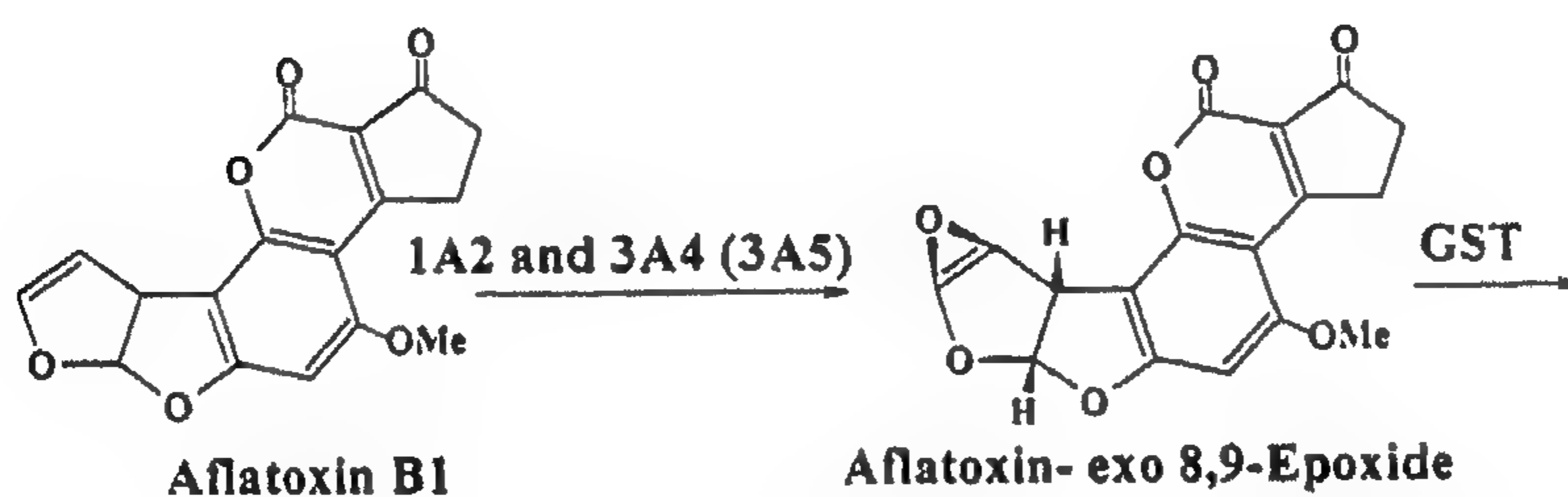
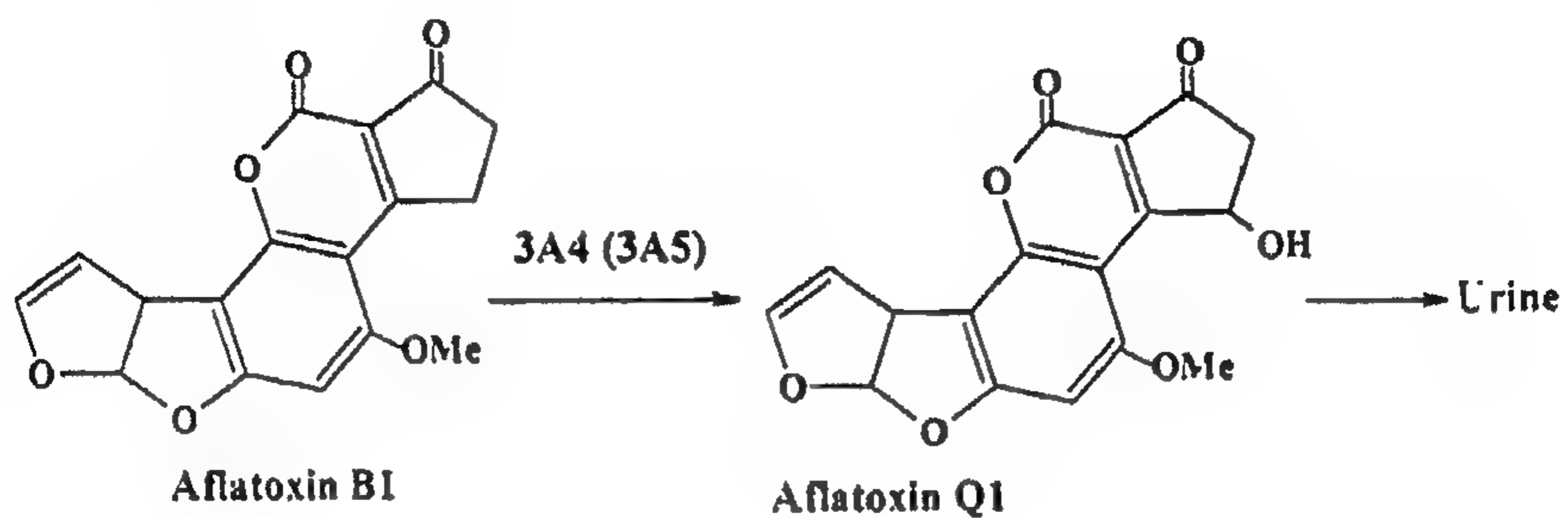
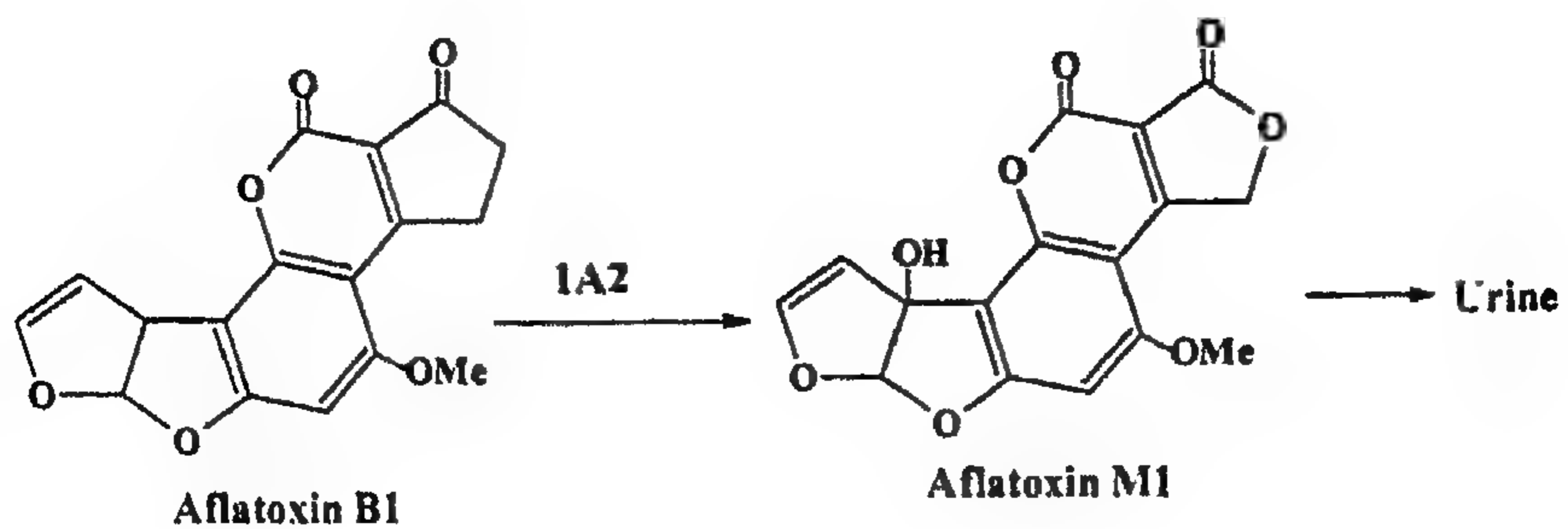
ويوجد مقترح آخر للتحويلات الحيوية لـ AFB1 هي:

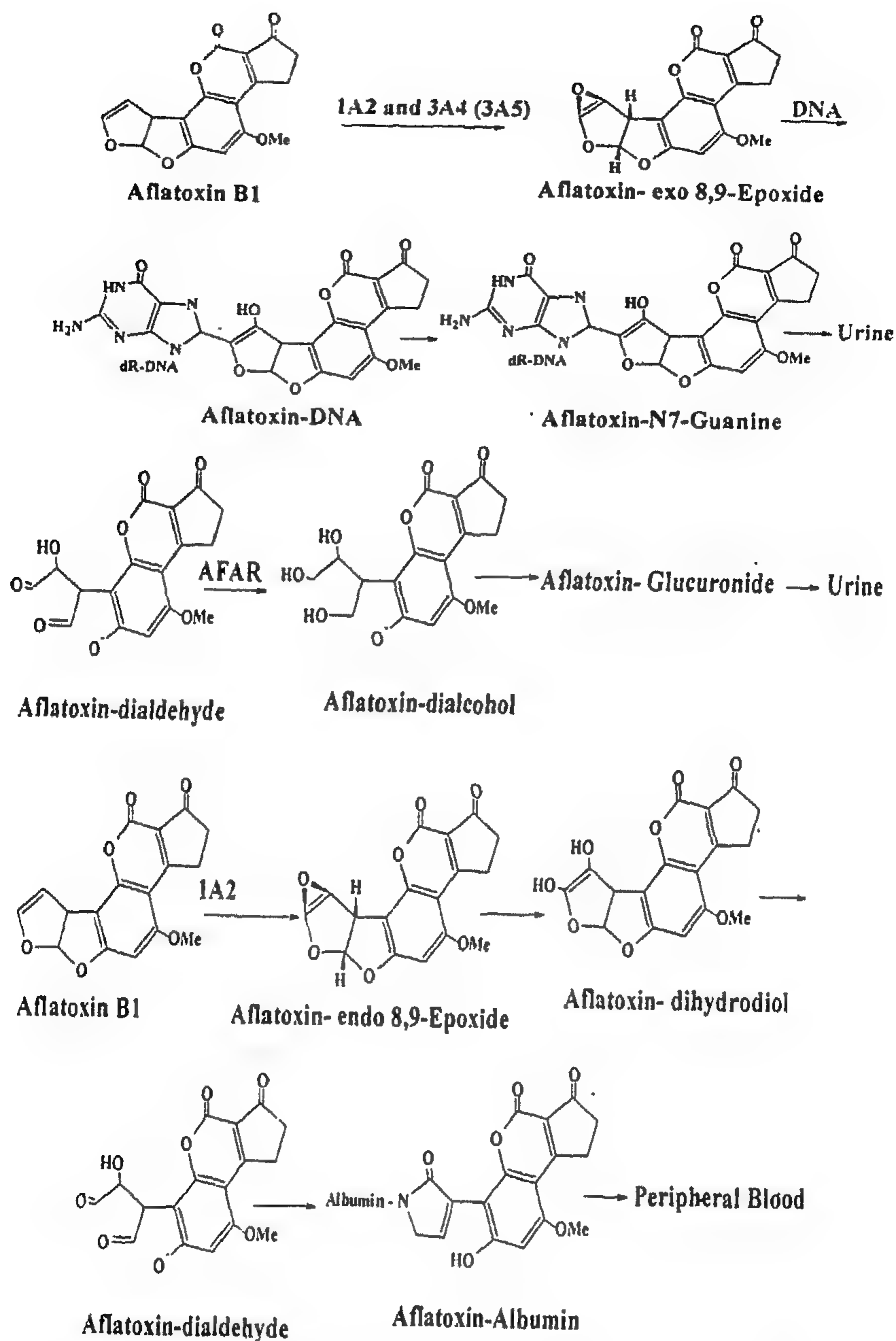
يتم تنشيط AFB1 بواسطة cytochrome P450 إلى AFB1-8,9-endo-epoxide، AFB1-8,9-exo-epoxide ولكن إلى exo-epoxide ترتبط مع DNA لتكوين: (AFB1 8,9-dihydro-8-(N⁷-guanyl)-9-hydroxy-AFB1 (AFB1 8,9-dihydro-8-(N⁷-Gua) adduct - الأكثر سائدة. AFB1-N⁷-Gua يسبب الخواص الطفرية للمركب. ارتباط exo-epoxide مع الجوانين يظهر هندسية التداخل بين زوج القاعدة في إلى DNA.

الأفلاتوكسين AF2, AFG1, AFG2 أقل تكويناً لـ epoxidation ونتيجة لذلك تكون أقل سمية وأقل تكويناً للسرطان والطفرات عن AFB1. وجد أن AFG1-8,9-epoxide له قابلية قليلة للتداخل مع إلى DNA بسبب أن تعديل تركيب الحلقة يقلل المسطح. AFB1 علامة حيوية biomarkers مفيدة لتعرض الإنسان للأفلاتوكسين، وتم اكتشاف AFM1, AFQ1, AFP1 في عينات من بول الإنسان.

والمعادلات التالية توضح ميٹابولزم الأفلاتوكسين AFB1 مؤدياً إلى عدد من الميٹابوليت النشطة وعلامات حيوية biomarkers في وجود مجموعة إنزيمات السيتوكروم في ميٹابولزم الأفلاتوكسين في الإنسان مثل:

1A2, CYP1A2; 3A4, CYP3A4; 3A5 CYP3A5;
GST, glutathione transferase; AFAR, aflatoxin
aldehyde reductase; aflatoxin-S-G, aflatoxin
glutathione conjugate.





ويمكن القول أن AFB1 -8,9- endo - expoxide الناتج من
 ميٹابولزم أفلاتوكسين AFB1 يحدث له نفس التحولات تحت نفس
 الظروف مثل AEB1-8,9-exo-epoxide .

*** بعض طرق تصنيع الغذاء قد تؤدي إلى خفض أو التخلص من الأفلاتوكسين فمثلاً الفول السوداني المحمص يؤدي إلى خفض القدرة على اكتشاف الأفلاتوكسين كيميائياً عن الغليان. المعاملة القلوية للذرة تؤدي إلى خفض معنوى للأفلاتوكسين.

Trichothecens:

يوجد عدد 180 من trichothecens ولكن عدد قليل معنوياً ضار لصحة الإنسان أول هذه المشتقات Deoxynivalenol (DON) وهو السائد بدرجة كبيرة في غذاء الإنسان. عموماً تنقسم إلى trichothecens إلى مجموعتين :

: Type A

T-2 toxin, diacetoxyscripenol

تتميز بوجود مجاميع فعالة غير كيتونية عند C-8

: Type B

nivalenol, , 3- acetyl-DON(fusarenol – x)

Deoxynivalenol (DON)

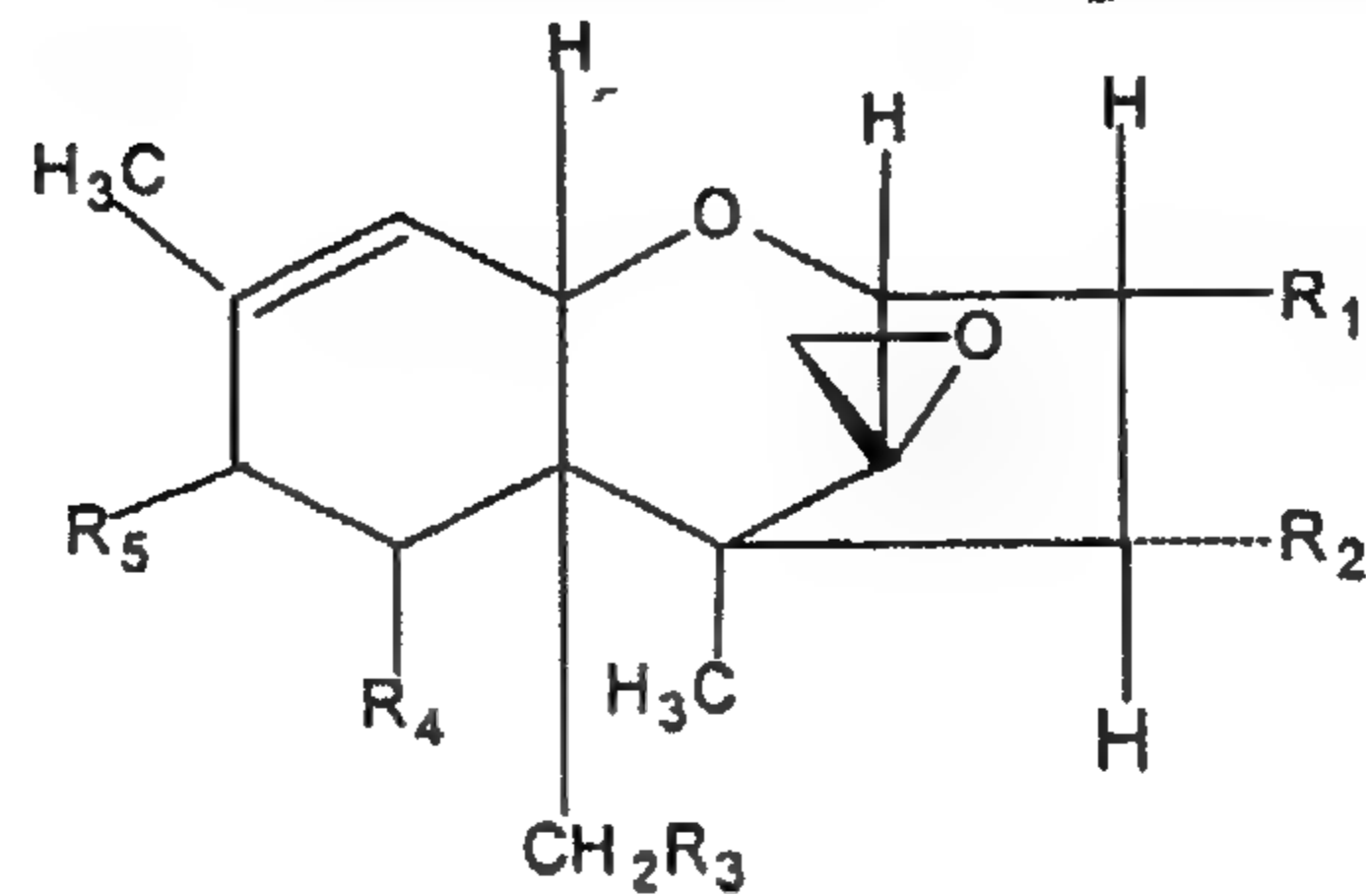
تتميز بوجود مجموعة كيتونية عند C-8

T-2 toxin, diacetoxyscripenol تذوب في المذيبات غير

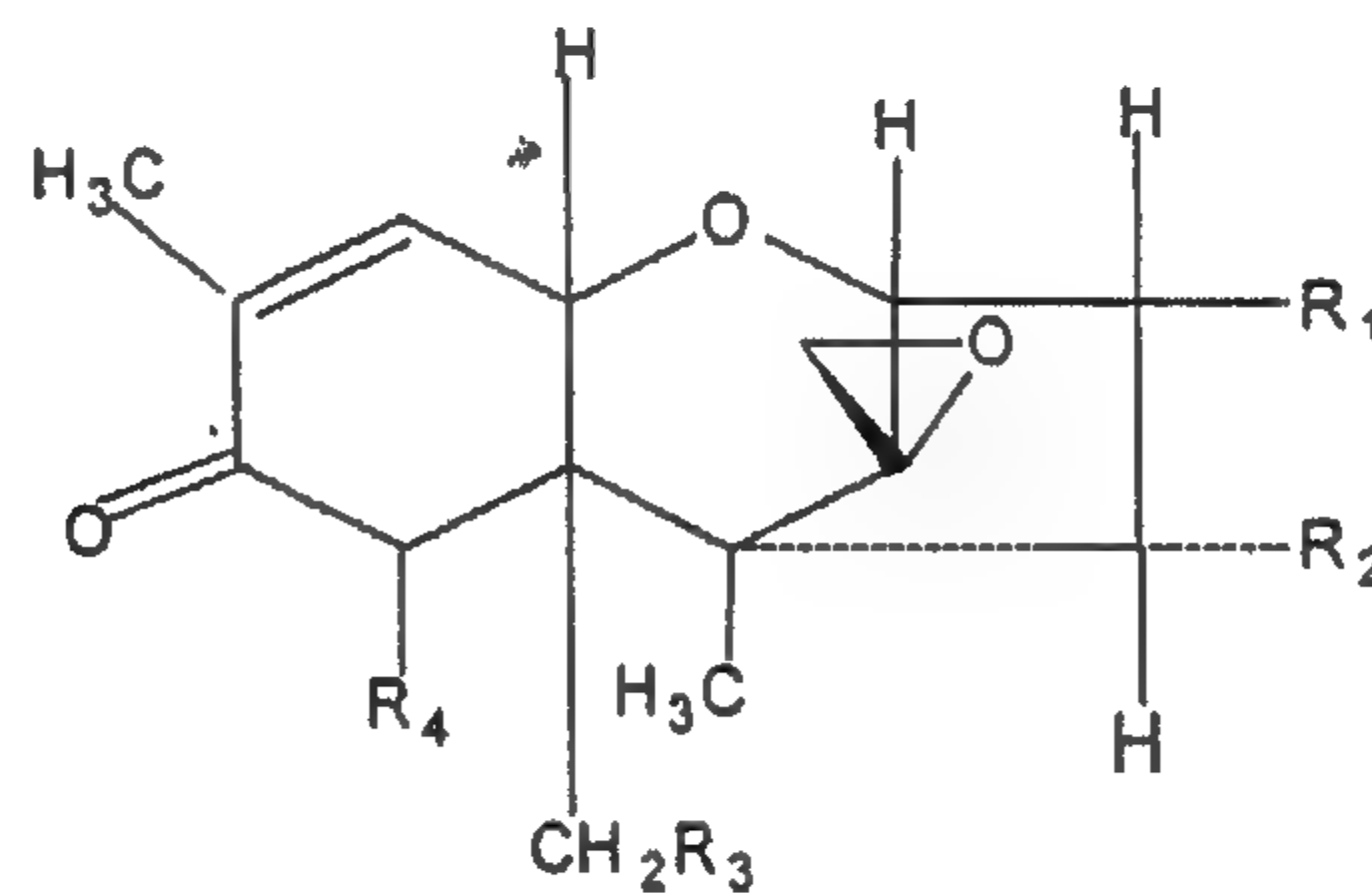
القطبية ، بينما (DON) Deoxynivalenol , , nivalenol تذوب في المذيبات القطبية مثل الكحول.

والتركيب العام للـ trichothecens هو:

المجاميع المستبدلة على إل Trichothecenes



	Molecular formula	R1	R2	R3	R4	R5
Diacetoxyscripenol	$C_{19}H_{26}O_7$	OH	OAc	OAc	H	H
T-2 Toxin	$C_{24}H_{34}O_9$	OH	OAc	OAc	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$
HT-2 Toxin	$C_{22}H_{32}O_8$	OH	OH	OAc	H	$OCOCH_2CH(CH_3)_2$
Macrocyclics		H	$-O-R'-O-$	H	H	H



	Molecular formula	R1	R2	R3	R4
Deoxynivalenol	$C_{15}H_{20}O_6$	OH	H	OH	OH
Nivalenol	$C_{15}H_{20}O_7$	OH	OH	OH	OH
Fusarenon X	$C_{17}H_{22}O_8$	OH	OAc	OH	OH
Macrocyclics		H	$-O-R'-O-$	H	H

R' = Macromolecules ester or ester – ether bridge between C_4 and C_{15} .

والـ trichothences تشكل مجموعه كيميائية تسمى Sesquiterpenoids.

- هذه السموم الفطرية من مجموعة trichothecens غير متطايرة لها وزن جزيئي منخفض (MW 250-550)، عديمة الذوبان في الماء، عالية الذوبان في الأسيتون، خلات الايثايل، الكلوروفورم، وثاني مثايل سلفوكسيد (DMSO)، إيثانول، ميثانول، بروبايلين جليكول propylene glycol.

- المواد النقية منها لها ضغط بخارى منخفض ولكنها تتبخر في خاله تسخينها في المذيبات العضوية.

- استخلاص trichothecens mycotoxins من البينات الفطرية بالمذيبات العضوية ينتج سائل أصفر بني والذي يتبخر يكون ناتج بلورى أصفر زيتى المظهر أما السموم عالية النقاوة تكون نواتج بلورية بلون أبيض لها درجات انصهار مميزة لها.

- عند حفظها إما في صورة مسحوق بلورى أو محاليل سائله فإن هذه المركبات تكون ثابتة عند تعرضها للهواء أو الضوء أو كلاهما معاً.

- هذه السموم الفطرية لا تصبح غير نشطة بواسطة الأوتوكلاف ولكن يلزم تسخينها عند 900°F لمدة 10 دقائق أو 500°F لمدة 30 دقيقة لكي تصبح غير نشطة.

- محلول sodium hypochlorite 5% - 3% جوهر فعال جداً لتحويلها إلى صور غير نشطة ويمكن زيادة فعالية هذا المحلول بواسطة إضافة كميات قليلة من قلو.

Trichothecene mycotoxins سامه للإنسان والحيوانات الأخرى والطيور، السمك وكثير من اللافقاريات، النباتات، eukaryotic cells.

Trichothcene mycotoxins هي cytotoxic لمعظم خلايا eukaryotic cells لوحظ تثبيط تخليق البروتين في خلايا Vero cells بعد 5 دقائق من التعرض T-2 toxin.

- كذلك ثبت أن هذه المركبات تعمل على تثبيط إما عملية بداية أو استطالة الانتقال بواسطة التداخل مع نشاط إنزيم peptidyl transferase.

- تؤدي إلى تثبيط قوى لتخليق RNA بنسبة 86% تثبيط في خلايا الإنسان (Hela). وكان T-2 toxin له أقل تأثير لتثبيط RNA (15%) في الـ Vero cells. وهذا التأثير على الـ RNA هو التأثير الثانوي لتنشيط تخليق البروتين.

- وجد أنه يتم تثبيط تخليق الـ DNA في أنواع مختلفة من الخلايا التي تتعرض للـ trichothecene mycotoxins في الفئران ولكن بدرجة أقل من التأثير على تخليق البروتين.

- تؤدي إلى زيادة Lipid peroxidation في الكبد، الطحال والكلية ونخاع العظام في الفئران المعاملة بجرعه فرديه عن طريق الفم من T-2 toxins.

- A microsomal carboxyl esterase غير المتخصص من الكبد يحلل C₄ - acetyl في T-2 toxin لتكوين HT-2 toxin .

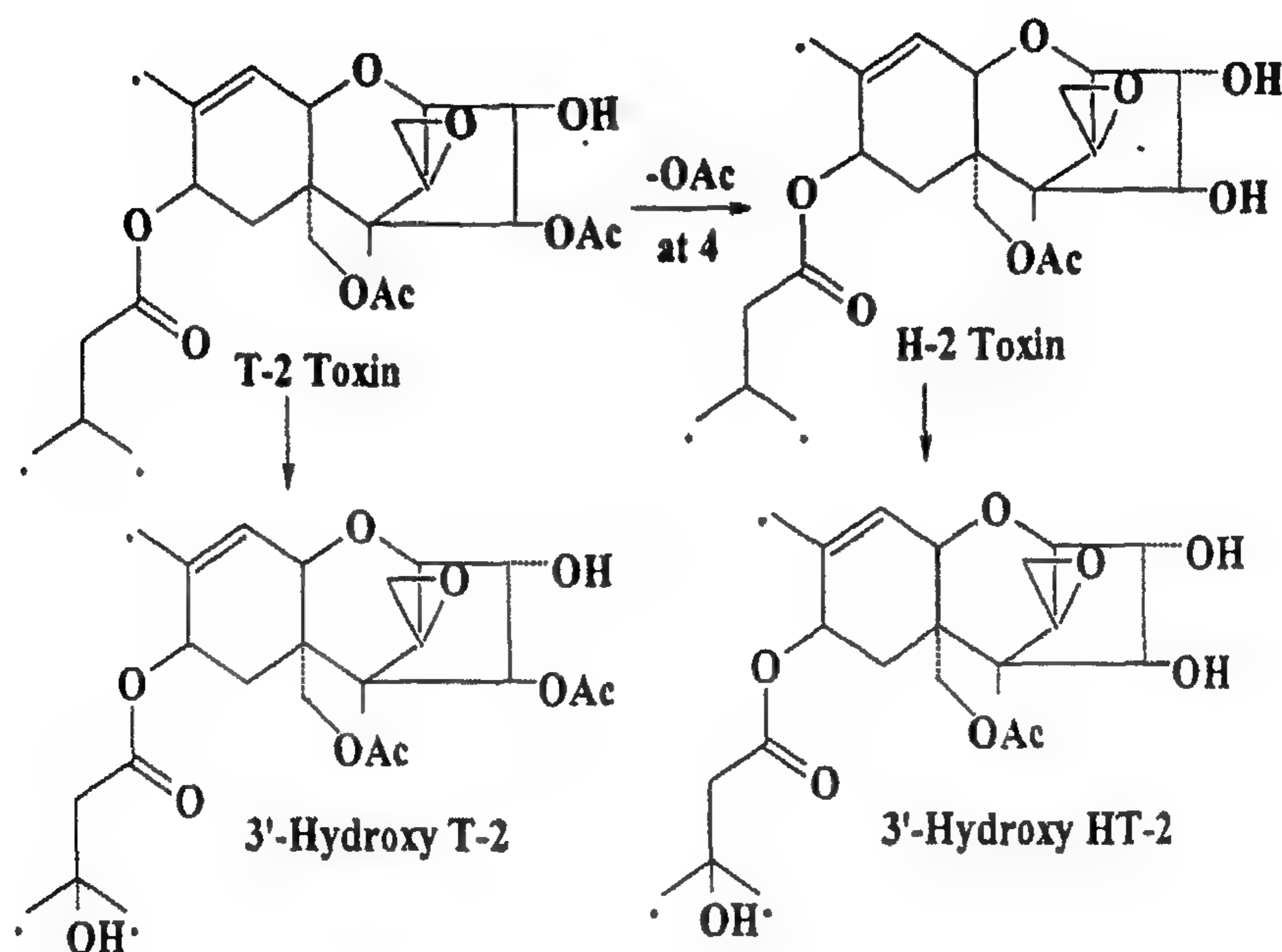
- A hepatic cytochrome P-450 هو المسئول عن المساعدة لإضافة مجموعة هيدروكسيل hydroxylation عند مواضع C₃' , C₄' على السلسلة الجانبية isovaleryl في كل من T-2 and HT-2 toxins

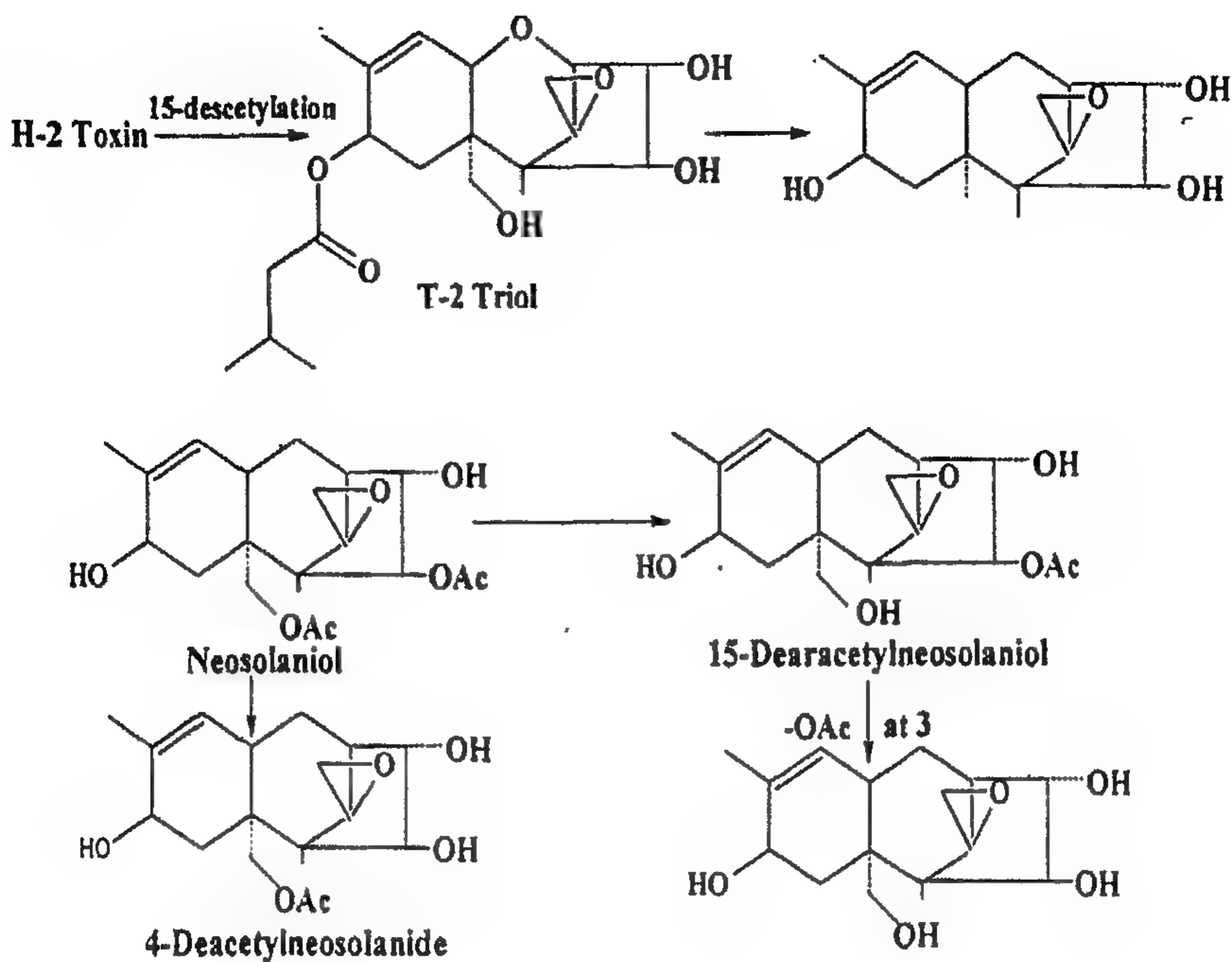
* عند إزالة ذرة اكسجين من حلقه الـ epoxide عند C-12,13 لتكوين رابطة مزدوجة (C=C) وأكسدة مواضع C-3' and C-4' على مجموعة isovaleryl في T-2 and HT-2 Toxin يتكون مركب de-epoxy وهو غير سام وعلى ذلك فإن اختزال الـ epoxide يعتبر خطوه فريدة لتفاعل إزالة سمية الـ mycotoxins trichothecene.

عموما يحدث الفيتابولزم للـ trichothecenes بثلاثة طرق أساسية هي :

- Conjugation
- De-epoxidation
- Deacetylation

إلى De-epoxidation هي الخطوة الأكثر أهمية في إزالة سمية هذه المركبات والتي يمكن أن تتم بواسطة الكائنات الدقيقة الموجودة في القنوات الهضمية في الحيوانات المجترة ، بينما الحيوانات التي تفتقد مثل هذه الكائنات الدقيقة تكون أكثر حساسية للـ trichothecenes. والميتابوليت الخاص به T2-toxin كالتالي:

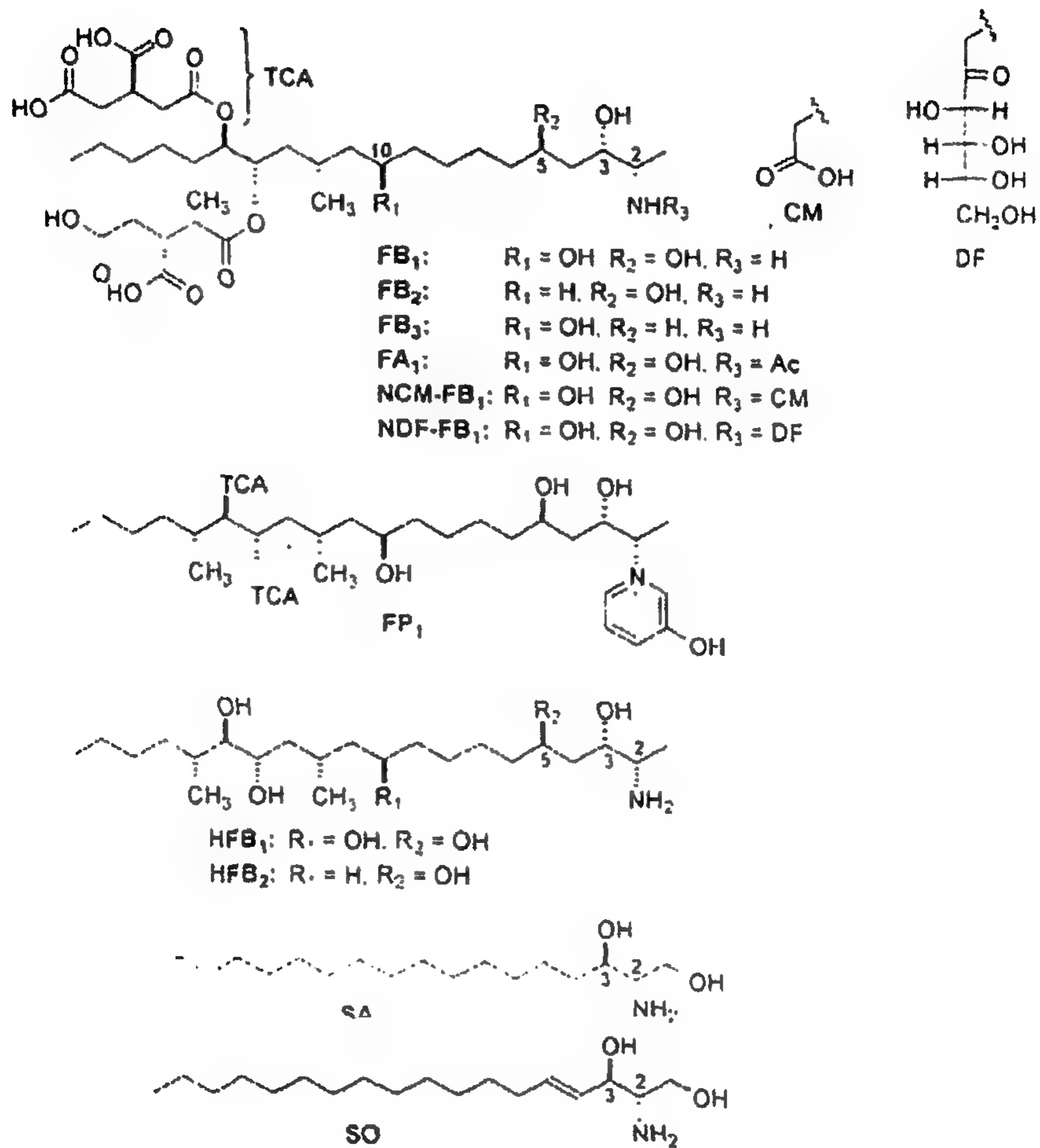




ومن ناحية أخرى فإن طرق تصنيع الغذاء الحالية لا تشارك بكفاءة فتي التخلص من DON إما عن طريق تقليل الكمية أو إزالة السمية في غذاء الإنسان أو الحيوان.

معاملة القمح والذرة بالمواد الإضافية المعترف بها إلى الطعام، مثل sulfites المائي و غاز الأوزون فمثلا وجد أن محلول مائي من Sodium bisulfite له تأثير إختزالي عالي عن طريق التفاعل مع DON لإنتاج المركب الوسطي (DON-S) - acid-stable sulfonate وهذا المركب الوسطي يتحلل مائيا في ظروف قلوية وينتج DON. في حالة تحميص الخبز فإن مستوى المادة السامة تزيد بنسبة 50 - 70 % وذلك نتيجة التحلل القلوي للمركب الوسطي DON - sulfonate ومن ناحية أخرى فإن مستوى DON في الذرة يقل بقدر 95 % بواسطة عملية autoclaving عند 121° C لمدة ساعة واحدة في وجود محلول مائي من sodium bisulfate.

Fumonisin



شكل (12) : التركيب الكيميائي والشكل الفراغي لـ FB_x fumonisins ومشتقاته

ويمكن توضيح المختصرات كالتالي:

Fumonisin (FBx) are diesters of ropane-1,2,3-tricarboxylic acid(TCA) and similar long – chain aminopolyol backbones :	
FB1: 2S-amino-12S,16R-dimethyl-3S,5R,10R,14S,15R pentahydroxyeicosane ,	
FB2: 2S-amino-12S,16R-dimethyl-3S,5R,14S,15R tetrahydroxyeicosane ,	
FB3: Hydrolyzed FB1(HFB1)	FA1 : N- acetyl FB1
HFB2: Hydrolyzed FB2	NCM – FB1: N – (carboxymethyl) – FB1
NDF – FB1: N – (1 – deoxy- D- fructose- 1- yl) - FB1	SA: D-erthro-sphinganine
SO: D-erthro-sphingosine	

تنتج بواسطة مسببات الأمراض النباتية في الذرة مثل :

A. proliferatum ، *Fusarium verticillioides*

الأطعمة المحتوية على منتجات مثل هذا الذرة المصاب يكون لها علاقة بالـ fumonisin في صناعة الغذاء، وتم التعرف على عديد من مركبات fumonisins كما هو موضح في شكل (12). ويعتبر fumonisin B (FB) هو السائد.

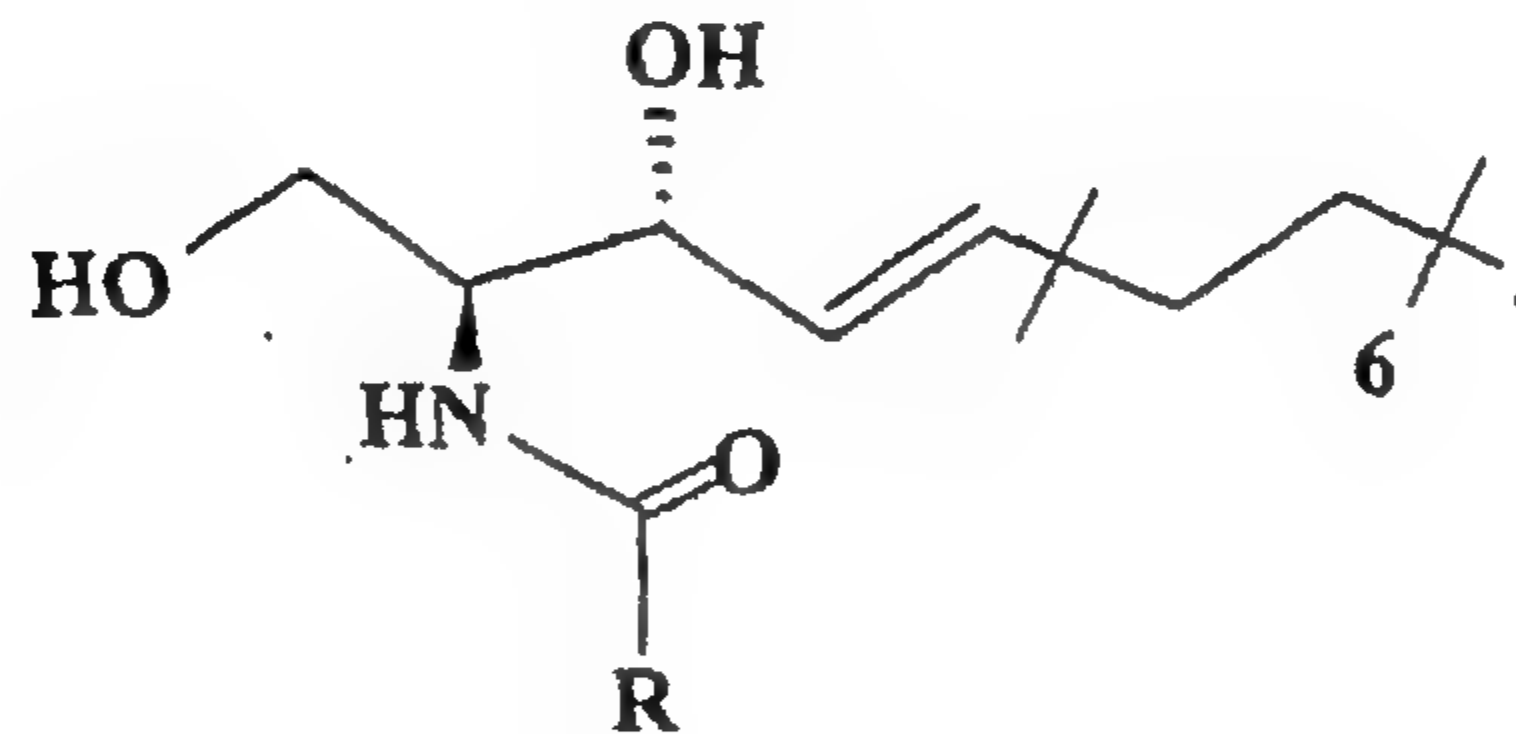
تعتبر الـ fumonisins عالية الذوبان في الماء، ولا تشبه كل السموم الفطرية في الأطعمة بسبب أنها لا تحتوي تركيب عطري aromatic أو مجموعة chromophore هي عبارة عن أمينات أولية (بالاستبدال عند موضع واحد من ثلاثة مواضع ارتباط) مع مجموعتين tricarboxylic acid التي تشارك في ذوبانها في الماء.

أولاً: ملخص التأثيرات التوكسيكولوجية لبعض مركبات fumonisins ونواتج تفاعلاتها:

* FB1 :

- يؤثر على الجهاز العصبي المركزي في الخيل كما يحطم خلايا مخ الخيل Equine leukoencephalomalacia.
 - استسقاء رئوي في الخنزير.
 - يؤثر على الكبد والكلية، وله تأثير متسرطن في كبد وكمليه القوارض، يثبط إنزيم Ceramide-synthase ، ويعوق ميتابولزم الليبيدات في خلايا الفئران .
 - توجد في الذرة والنواتج المطهية ويذوب في الماء ، مسبب سرطاني محتمل للإنسان
- ملحوظة :

Ceramide : قد يكتب Ser-A-mid أو Seramide يتركب من sphingosine وحمض دهني والشكل التركيبي كالتالي :



يوجد الـ Ceramide بتركيز عالي في غشاء الخلايا، وهو أحد مكونات الليبيدات التي تشكل الـ Sphingomyelin وهو أحد الليبيدات الرئيسية في Lipid bilayer. وهو أحد الليبيدات النشطة حيويًا الموجودة في العمليات البيولوجية المختلفة من تنظيم نمو الخلايا إلى برمجة موت الخلايا وعدم تجديد الخلايا.

Ceramide Syssthase : (Cer S) بروتين غشاء الشبكة الاندروبلازمية

* FB2/ FB3 :

يسبب Equine leukoencephalomalacia (FB2) في الغذاء الملوث طبيعياً، يسبب سمية للكبد والكلية وتثبيط إنزيم ceramide synthase مثل FB1 (*in vitro*) في الفئران rats التي تغذت على بيئة محتوية FB2 or FB1 لمدة 21 يوم. ولكن لم تظهر سمية في الـ mice من دراسات تغذية على FB2 or FB1 لمدة 28 يوم، تثبيط ceramide synthases (*in vitro*) وذلك نتيجة التواجد المشترك للـ FB1 ولكن في العادة عند تركيزات منخفضة.

* Hydrolyzed FB1 (HFB)

دراسات تغذية hydrolyzed cultural material feeding:

- تشجيع ورم الكبد في الـ rats.
- سمية الكبد والكلية، تثبيط ceramide synthase في الـ rats ولكن لم توجد سمية في كل من rats or mice (دراسات تغذية لفترة قصيرة).
- تثبيط الـ Ceramide synthase أقل قوة من FB1.
- هذا المركب يتكون بواسطة التحلل المائي في وجود قلوى للـ FB وهذا التحلل المائي يزيل مجاميع TCA.
- الأكثر قوة من FB1 في بعض اختبارات السمية ينطلق LDH.
- الاستبدالات لقاعدة sphingoid base كمادة تفاعل لإنزيم ceramide synthase يساعد تكوين N- acylaminopentols (*in vitro* and *in vivo* in rats).

* N-Acetyl FB1 (FA1) :

- لم يحدث سمية للـ mice لمدة 28 ساعة تغذية.
- لم يثبط إنزيم ceramide synthase.
- FA1، FA2 لا تبدأ ولا تشجع نشاط سرطان الكبد في الـ rats.
- يوجد بكميات صغيرة، يعاد تنظيمه إلى O-acetyl FB1 الذي يثبط إنزيم ceramide synthase (*in vivo*).

Browning reaction products *

- يحدث عند تسخين FB1 في وجود الجلوكوز أو أى جواهر مختزله.
الناتج الأول مثل قاعدة شيف التى تدخل فى إعادة
تنظيم NDF – FB1 ، NCM – FB1.

(NDF-FB1)N-(1-Deoxy-D-fructose – 1 – yl)FB1 *

- يتكون عند تفاعل FB1 مع reducing sugar ويتم التعرف أولاً
على ناتج ثابت من fumonisin ومن خلال تكوين قاعدة شيف
يتكون NDF – FB1 الذى يعاد تنظيمه إلى NCM – FB1
ويتكون NDF – HFB1 بواسطة التحلل المائي فى وجود قلوئى إلى
NDF – FB1.

N-(cerboxymethyl) - FB1(NCM- FB1) *

لم يلاحظ تأثيرات على الـ mice بعد 28 ساعة تغذية، لا يثبط انزيم
ceramide synthase، يوجد طبيعياً فى كميات صغيرة. النظير
NCM – HFB1 يتكون كنتيجة التحلل القلوئى.

:FB1-starch or FB1-protein conjugates *

- مجهول ولكن FB1 متاح حيويًا بقوة إذا تحطمت الارتباطات فى
الأمعاء.

- يرتبط FB1 مع نموذج نشا أو بروتينات عند تسخينها، وجود
هذه المركبات فى الغذاء ليس دليلاً ولكن هذا يفسر أن الـ
hidden fumonisins تنفرد كصور محله مائياً من الـ
cornflakes بواسطة التحلل المائى فى وجود قلوئى.

: FP1 *

لم يلاحظ تأثير فى الـ mice (28 ساعة تغذية)، تتحول مجموعة
الأمين فى FB1 بواسطة *Fusarium spp.* إلى
2-hydroxypyridine تحت ظروف غير هوائية.

ثانيا : تأثير طرق التصنيع على تواجد الـ fumonisin :

١- تأثير الطحن Milling :

الطحين الجاف: يوجد الـ fumonisin في كل من أجنة الذرة، الردة، والذره الناعم بينما الرقائق الخشنة من الذرة تحتوى مستويات منخفضة من الـ fumonisin. أما في حالة الطحين الرطب فوجد أن النشا لا يحتوى بقايا FBx قابله للاكتشاف بينما مستويات الـ fumonisin في الأجزاء الأخرى كانت بالترتيب التالى :

Gluten > fiber > germ

٢- التنظيف cleaning:

الغربلة باستخدام غربال (3mm) لغربلة الناعم (< 3mm) من حبوب الذرة الكلية (0.53-1.89 mg total fumonisins/kg) قللت المستوى بمعدل 26-69%.

١- التسخين Heating:

الغليان (30،100°C دقيقة) لمادة البيئة الخاصة بالفطر *Fusarium verticillioids* لم تقلل تركيز FB1.

٤- البسترة Pasteurization:

بسترة السنابل البنية المحتوية 50 ng /ml FB1 and FB2 عند درجة حرارة 62°C لمدة 30 دقيقة لم تؤثر معنوياً على خفض مستويات الـ fumonisin، ولكن التحطم يبدأ عند ارتفاع درجات الحرارة ويحدث التحطم الحرارى.

الباب الثاني عشر
التشريعات الخاصة
بالسموم الفطرية على
مستوى العالم
Mycotoxins Legislation
Worldwide

الباب الثاني عشر

التشريعات الخاصة بالسموم الفطرية على مستوى العالم Mycotoxins Legislation Worldwide

القطاع الرئيسى فيما يتعلق بتشريعات السموم الفطرية فى الاتحاد الأوروبى هو لجنة التنظيم Commission Regulation (2006) No. 1981 (EC) المعدلة. وضعت قواعد خاصة بالنسبة للسموم الفطرية وملوثات أخرى وتشمل وضع حدود قصوى خاصة specific maximum limits للمواد الغذائية منفردة. السموم الفطرية التى يوجد لها حدود قصوى خاصة مثل:

Aflatoxins, ochratoxin A, patulin and the *Fusarium* toxins including deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins.

تطبيق هذه النظم على كل العاملين فى مجال الغذاء والتى تشمل على سبيل المثال الاستيراد، الإنتاج، التصنيع، التخزين، التوزيع وبيع المواد الغذائية.

وكذلك تم وضع قواعد لطرق أخذ العينات والتحليل للتحكم فى الحد الأقصى للسموم الفطرية وهذه النظم تؤكد على التجانس والثبات بواسطة أعضاء الاتحاد الأوروبى.

من المعروف أن تلوث الغذاء هو مادة لا تضاف عمداً على الغذاء ولكنها تكون موجودة فى هذا الطعام كنتيجة لعمليات التصنيع، التجهيز، المعاملات، التعبئة، النقل أو تداول الطعام أو كنتيجة للتلوث البيئى. كثير من السموم الفطرية تنتج فى المواد الغذائية مثل المكسرات والفاكهة المجففة كأمثلة للتلوث الطبيعى.

على أى الأحوال فإن إطار التشريعات لآى دولة ينص على أن أى طعام يحتوى تلوثاً بكمية غير مقبولة من وجهة نظر الصحة العامة

وخاصة عند المستوى السام لا يمكن تسويقه في هذه الدولة. ويجب حفظ مستوى التلوث منخفض بدرجة معقولة بواسطة التدريبات الجيدة. ولقد تم إقرار تنظيمات وقواعد في معظم الدول للتحكم في تلوث المواد الغذائية لحماية صحة الإنسان وتشمل الحدود القصوى الخاصة لمختلف الملوثات في الأطعمة المختلفة بالإشارة إلى طريقة أخذ العينات وكفاءة التحليل. ولقد وضعت تشريعات السموم الفطرية في الدول المختلفة لكي تحدد الحد الأقصى لها في المواد الغذائية المختلفة.

يوجد عوامل مختلفة علمية واجتماعية اقتصادية قد تؤثر على تقدير الحدود القصوى والتنظيم هذه العوامل مثل:

- ١- وجود بيانات عن السمية toxicological data.
- ٢- وجود بيانات عن تواجد السموم الفطرية في السلع المختلفة.
- ٣- وجود معلومات عن مدى توزيع تركيزات السموم الفطرية داخل المجموع.
- ٤- وجود طرق للتحليل.
- ٥- التشريع في الدول الذي من خلاله يتم التواصل التجاري.
- ٦- الحاجة الى مخزون طعام كافى.

العوامل الأول والثاني تعطى معلومات ضرورية عن تقدير الضرر وتقدير التعرض للمادة لتحديد الخطر.

أولاً: أفلاتوكسين: Aflatoxins

تشمل (AF1 and total aflatoxins (B1,B2,G1,G2). الحدود القصوى maximum limits للأفلاتوكسين في المواد الغذائية هي الأكثر شيوعاً عن السموم الفطرية الأخرى على مستوى العالم. يمكن التحكم في الحدود الخاصة بالأفلاتوكسين بواسطة مجموع القيمه للأفلاتوكسينات B1,B2,G1,G2 بالإضافة الى أو B1.

فى الاتحاد الأوروبى (European Union (EU) تم وضع الحد الاقصى للأفلاتوكسينات الكليه أى أفلاتوكسين B1 بالاضافه إلى / أو أفلاتوكسين M1 لجميع المواد الغذائيه المختلفه وتم إقراره فى :

Commission Regulation (EC) No. 188 (2006)

المعدله لوضع المستويات القصوى للملوثات المختلفه فى المواد الغذائيه ولقد تم إقرار تعديلات مباشره بواسطه EC(2006) ليكون قابلا للتطبيق فى 27 ولايه من الاتحاد الأوروبى.

على أى الأحوال وضعت تنظيمات إضافيه فى تشريعات كل دوله عضوا فى الاتحاد الأوروبى فمثلا دول مثل النمسا، ألمانيا، دينمارك، فيلندا، أسبانيا، السويد وضعت حدودا إضافيه خاصة بها داخليا تشمل الحدود القصوى الأفلاتوكسين B1 مع أو مجموع الأفلاتوكسينات الكليه لكل المواد الغذائيه التى ليس لها حدود خاصه معتمده من إلـ Commission Regulation وهذه الحدود تتراوح من 1µg/kg فى النمسا إلى 5µg/kg فى أسبانيا لأفلاتوكسين B1، ومن 4µg/kg فى دينمارك، ألمانيا إلى 10µg/kg فى فرنسا للأفلاتوكسينات الكليه.

بعض الدول الأخرى مثل تركيا، البوسنة، سويسرا تأثرت بتنظيمات الاتحاد الأوروبى وتتجه بأن يكون لها تشريعات عامه شامله للتحكم فى الأفلاتوكسين.

جدول (9) حدود الأفلاتوكسين الكلية فى بعض الدول

الدولة	المواد الغذائية	Total aflatoxins (µg/kg)
- استراليا، نيوزيلندا	فول السودانى، أشجار المكسرات	15
- كندا	المكسرات ومنتجاتها	15
- مجموعة دول الخليج (السعودية، الإمارات العربية، الكويت، البحرين، عمان اليمن، قطر)	فول السودانى - اللوز - المكسرات البرازيليه - البندق - الفستق ، ومنتجاتها المصنعة	15
- نيجيريا	اللوز - البندق فى الأغذية الجاهزه	10
- الهند	القمح ، الذره، الذره الرفيعه، حبوب المحاصيل الأخرى	30
الولايات المتحدة الأمريكية	المكسرات البرازيليه، فول السودانى ومنتجاته منتجات الفستق	20
جنوب أفريقيا	الفول السودانى ومنتجاته	15

ومن هنا فإن دولاً أخرى مثل الهند والولايات المتحدة الأمريكية أقرت الحد الأقصى العام للأفلاتوكسين فى الطعام والتي ليس لها حدود قصوى خاصة فى حدود $30\mu\text{g/kg}$ فى الهند، $20\mu\text{g/kg}$ فى الولايات المتحدة الأمريكية، وفى جنوب أفريقيا تم إقرار الحد الأقصى العام للأفلاتوكسين بأنه $10\mu\text{g/kg}$ بالإضافة إلى $5\mu\text{g/kg}$ لأفلاتوكسين β_1 .

جدول (10) : حدود أفلاتوكسين M1

الدولة	المواد الغذائية	Aflatoxin M1 µg/kg
- الاتحاد الأوروبي البوسنة والهرسك - تركيا	اللبن الخام - اللبّن المعامل حرارياً- اللبّن المعد لصناعة المنتجات المعتمدة على اللبّن	0.05
	لبّن الأطفال المجهز وما ينتج منه	0.025 (منتجات جاهزة للاستعمال)
	أطعمه لبنيه للأغراض الطبية وبوجه خاص للأطفال	0.025 (منتجات جاهزة للاستعمال)
- الصين	اللبّن ومنتجاته لمسحوق اللبّن محسوباً على أساس اللبّن الطازج	0.5
	الطعام المجهز للأطفال الأكبر سناً (لبّن بروتين اللبّن)	0.5 محسوباً على أساس مسحوق اللبّن الجاف
	الطعام المجهز للأغراض الطبيعية بوجه خاص للأطفال	0.5 محسوباً على أساس مسحوق اللبّن الجاف
- مجموعة دول الخليج العربي والهند - كينيا والولايات المتحدة الأمريكية	اللبّن	0.5
- الأرجنتين	اللبّن السائل المستعمل في إنتاج منتجات اللبّن واللبّن المعاد تشكيله	0.5
	مسحوق اللبّن	5.0
- المكسيك	اللبّن المبستر واللبّن منزوع المياه dehydrated milk	0.5
- جنوب أفريقيا	اللبّن	0.05

كل أعضاء الاتحاد الأوروبي فيما عدا ألمانيا عندهم حدود قصوى إضافية لـ AFM1. التشريع الألماني الداخلي خصص حد أقصى إضافي لـ AFM1 في الأغذية المناسبة للأطفال عند 0.01 µg/kg.

ثانياً : Ochratoxin A

لجنة التنظيم في الاتحاد الأوربي (2006) EC أعلنت عن وضع الحدود القصوى للـ Ochratoxin A (OTA) في المواد الغذائية مثل الحبوب غير المصنعة والمنتجات المشتقة منها والعنب المجفف، حبوب القهوة، القهوة الذائبة، النبيذ، البهارات والمنتجات الغذائية الخاصة بالأطفال وكان أقل حد أقصى تم وضعه فيما عدا المنتجات الخاصة بالأطفال هي $2\mu\text{g/kg}$ للنبيذ وعصير العنب بينما كان $80\mu\text{g/kg}$ لمستخلص liquorice (هو أحد النباتات تستخلص منه مادة تستعمل في الأدوية أو كمادة حلوه المذاق). ولقد تم وضع حدود قصوى إضافية للـ OTA خاصة بكل الدول الاعضاء في الاتحاد الأوربي مثل دينمارك، المجر، إيطاليا، ألمانيا وذلك في تشريعاتهم الداخلية.

ثالثاً: Deoxynivalenol (DON)

أقر الاتحاد الأوربي الحد الأقصى للـ DON في المنتجات مثل الحبوب غير المصنعة unprocessed cereals ومنتجات الحبوب مثل المكرونة والخبز ما بين $200\mu\text{g/kg}$ للأطعمة المعتمدة على الحبوب المصنعة processed cereal – based foods وطعام الاطفال بينما كان $1750\mu\text{g/kg}$ للقمح والذره غير المصنعة.

جدول (11) : الحد الأقصى للـ DON في بعض دول العالم

الدولة	المواد الغذائية	Deoxynivalenol µg/kg
- كندا	قمح طرى غير نظيف للاستعمال فى الأطعمة غير الرئيسية	2000
	قمح طرى نظيف يستعمل فى طعام الأطفال	1000
- الصين	الذرة، وجبات الذرة (رقائق وجبات الذرة الخشنة)	1000
	القمح، الشعير، حبوب الإفطار، دقيق القمح	1000
- الهند	القمح	1000
- اليابان	القمح	1000
- روسيا	القمح ، حبوب القمح، دقيق القمح، الشوفان منتجات المكرونة، الخبز، طعام بروتين من بذور الشعير	700
	حبوب الشعير دقيق الشعير ، الشوفان منتجات المكرونة	1000
	دقيق الحلويات	700
	منتجات القمح الكاملة	1000
الولايات المتحدة الأمريكية		

فى روسيا وضعت حدود خاصة إضافية للـ DON فى أنواع خاصة من المنتجات للأطفال وكذلك للمرأة الحامل والمرضة. أما فى أستراليا، نيوزيلندا ودول الخليج، كينيا وجنوب أفريقيا لا يوجد حدود خاصة بالـ DON فى المواد الغذائية.

رابعاً: Patulin

فى كثير من الأسواق مثل الصين، دول الخليج، الولايات المتحدة الأمريكية تم وضع الحد الأقصى maximum limit بصورة عامه لمنتجات التفاح مثل عصير التفاح ويبدو أن الحد الأقصى وهو 50 µg/kg عالمياً فى كل الدول.

جدول (12) الحد الأقصى لـ patulin

الدولة	المواد الغذائية	Patulin µg/kg
- الصين	منتجات الفاكهة محتوية التفاح	50
	عصير التفاح والخضروات	50
	المشروبات الكحولية وتشمل التفاح	50
- مجموعة دول الخليج العربي - كينيا ونيجيريا	عصير التفاح	50
- الهند	عصير التفاح و مواد العصير فى المشروبات الأخرى	50
- اليابان	عصير التفاح والطعام المعد من عصير التفاح كماده خام	50
- جنوب أفريقيا	عصير التفاح و مواد عصير التفاح فى المشروبات الأخرى	50
- الولايات المتحدة الأمريكية	عصير التفاح ومركزات ومنتجات عصير التفاح	50

وفى الاتحاد الأوربى تم وضع الحدود القصوى للـ patulin فى الفاكهة ومنتجاتها خاصة منتجات التفاح وهو الحد الأقصى العالمى 50 µg/kg الذى يطبق أيضاً على عصائر الفاكهة والمشروبات الكحولية، سيدر، وبعض المشروبات المخمرة المشتقة من التفاح. على أى الأحوال يتم وضع حدوداً إضافية للمنتجات مثل منتجات التفاح الصلبة، وعصير التفاح وطعام الأطفال فى السويد

كان $50\mu\text{g/kg}$ وضع كمستوى محلى لمنتجات الفاكهة، وفي روسيا تم وضع حدود قصوى للـ patulin لكل منتجات التفاح والطماطم وبعض العصائر والمرببات وكانت الحدود القصوى متوافقة مع الحد العام العالمى $50\mu\text{g/kg}$ بجانب منتجات الأطفال والسيدات الحامل والمرضعات.

عموما لا توجد حدود قصوى للـ patulin فى المواد الغذائية فى أستراليا، نيوزيلندا، كندا والمكسيك.

خامسا : Fumonisins and Zearalenone

فى الاتحاد الأوروبى تم وضع حدود قصوى للـ fumonisins and zearalenone فى المواد الغذائية أساسا فى الحبوب ومنتجات الغذاء المعتمدة على الحبوب.

كثير من الدول التى تأخذ تشريعات الاتحاد الأوروبى كمرجع لها مثل تركيا، البوسنة والهرسك، النرويج وسويسرا وضعت حدود قصوى مماثلة لـ fumonisins and zearalenone .

على الأحوال، فى معظم الأسواق العالمية لا توجد حدود قصوى خاصة للـ fumonisins مثل الصين، اليابان، الهند، دول الخليج العربى، كندا وكثير من دول أمريكا اللاتينية.

أما فى الولايات المتحدة الأمريكية فقد أقرت إدارة الأغذية والدواء استشارة إضافة بعض المواد المحتوية لـ fumonisins.

جدول (13): الحد الأقصى الاستشاري للـ Fumonisin في الولايات المتحدة الأمريكية

المواد الغذائية	Fumonisin (FB1+FB2+FB3) µg/kg
منتجات الذرة المكسور المطحون (رقائق جريش الذرة، دقيق الذرة الذي يحتوى دهني أقل من 2.25% على أساس الوزن الجاف	2000
منتجات الذرة الكلى أو المطحون (رقائق جريش الذرة أو البرغل، جريش الذرة، دقيق الذرة بمحتوى دهني أقل من 2.25% على أساس الوزن الجاف	4000
ردة الذرة المطحون الجاف	4000
الذرة النظيف لإنتاج masa (أحد الفطائر من الذره)	4000
الذرة النظيف لإنتاج الفشار	3000

من ناحية أخرى تم وضع الحد الأقصى للـ zearalenone في التشريعات الداخلية للبرازيل، الصين، روسيا. وعلى أى الأحوال كثير من دول العالم مثل الولايات المتحدة الأمريكية، اليابان، أستراليا، نيوزيلندا ودول الخليج العربي ودول أفريقيا لم تقر حد أقصى خاص بالـ zearalenone. وبصورة مثيرة للاهتمام فإن الحد الأقصى لـ zearalenone في شيلي في جميع المواد الغذائية 200mg/kg.

جدول (14) : حدود T-2 toxin المسموح بها في روسيا

المواد الغذائية	T2 – toxin µg/kg
حبوب الطعام مثل القمح، الذرة، الأرز، الحنطة السوداء	100
حبوب ورقائق الشوفان	100
دقيق القمح للمكرونة ، الشعير ، الذرة	100
الطعام المعتمد على الحبوب للأطفال حتى عمر 3 سنوات	NP (غير مسموح) 50 (LOD) Limit of Detection حد الاكتشاف
منتجات اللبن والحبوب للسيدات الحامل والمرضعات	NP 50 (LOD)
منتجات الخبز ، الدقيق للأطفال حتى عمر 3-4 سنوات	NP 50 (LOD)
اللحوم والخضروات المعلبة التي تحتوى حبوب للأطفال حتى عمر 3 سنوات	NP 50 (LOD)
الأسماك والخضروات المعلبة التي تحتوى حبوب للأطفال حتى عمر 3 سنوات	NP 50 (LOD)
منتجات سمكية تحتوى حبوب للأطفال حتى 3-14 سنة	NP 50 (LOD)
منتجات منخفضة البروتين (النشا - المكرونة)	NP 50 (LOD)

LOD= Limit of Detection

NP= Not Permitted

على وجه العموم فإن كثيراً من الدول يوجد بها تشريعات داخل الدولة تضع حدوداً قصوى للأنواع المختلفة من السموم الفطرية في مختلف المواد الغذائية. من ناحية أخرى طبقاً لمنظمه (FAO,1997) يمكن تلخيص التشريعات العالمية للسموم الفطرية كما يلي

(جدول 15).

International Legislation on Mycotoxins (FAO, 1997)

الدولة	نوع الغذاء	السموم الفطرية	الحد المسموح به
البرازيل	- فول السودانى (بالقشر - الخام - المحمص) - دبنة فول السودانى - زبد الفول السودانى - الذرة (الحبوب الكلية - المكسورة المطحونة - الدقيق) - اللبن السائل - اللبن الخاف (مسحوق اللبن) - علف الحيوان	AFlatoxins B1, B2, G1, G2 AFlatoxins B1, B2, G1, G2 AFM1 AFM1 AFB1, B2, M1, M2	20 µg/kg 20 µg/kg 0.5 µg/L 5 µg/L 20 µg/L
الأرجنتين	- طعام الأطفال - فول السودانى الذرة ومنتجاتهم - دقيق فول الصويا - اللبن السائل والمسحوق منتجات اللبن	AFB1 AFB1 B1, B2, G1, G2 AFB1 AFM1 AFM1	Zero 5 µg/kg 20 µg/kg 20 µg/kg 1.05 µg/kg 0.5 µg/kg
أورجواي	- الطعام والبهارات - منتجات فول الصويا وفول السودانى البذور المجففة - حبوب الكوكا - طعام الأطفال (المصنع) - الذرة والشعير - اللبن ومنتجاته - عصير الفاكهة - الذرة - الشعير، البطاطس - القهوة - الأرز	AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2 AFM1 Patulin Ochratoxin A	20 µg/kg 30 µg/kg 10 µg/kg 1 µg/kg 10 µg/kg 1.0 µg/kg 0.5 µg/kg 10 µg/kg
كندا	- المكسرات ومنتجاتها - القمح الناعم soft wheat - الأعلاف - أعلاف الأبقار والدواجن - أعلاف الحيوان اللبنية	AFB1, B2, G1, G2 Deoxynivalenol " AFB1, B2, G1, G2 Deoxynivalenol, HT-2 toxin Deoxynivalenol	15 µg/kg 2000 µg/kg 20 µg/kg 5000 µg/kg 100 µg/kg 25 µg/kg
شيلي	- الأعلاف	AFB1 AFB1, B2, G1, G2	20 µg/kg 50 µg/kg

20µg/kg 30µg/kg	AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2	-الطعام -الحبوب (الذرة الرفيعة) -البذور الزيتية - علف الأبقار -بذور السمسم - علف الدواجن	كولومبيا
10µg/kg 50µg/kg 20µg/kg 20µg/kg	AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2		
35 µg/kg 50 µg/kg	AFB1, B2, G1, G2 AFB1, B2, G1, G2	-الذرة للاستهلاك الانسانى -الذرة للاستهلاك الحيوانى	كوستاريكا
5 µg/kg	AFB1, B2, G1, G2	-الطعام، الحبوب، فول السودانى	كوبا
20 µg/kg 1000 µg/kg 0.5 µg/kg	AFB1, B2, G1, G2 Deoxynivalenol AFM1	-الطعام -منتجات القمح الجاهزة للأكل - منتجات اللبن	الولايات المتحدة الأمريكية
20 µg/kg	B1,B2,G1,G2	-الذرة-الردة- الأرز- الذرة الرفيعة- الفول السودانى - زبدة الفول السودانى	جواتيمالا
1µg/kg 1 µg/kg 0.01 µg/kg 0.02 µg/kg 0.05 µg/kg 0.25 µg/kg	B1,B2,G1,G2 AFB1 B1,B2,G1,G2 AFM1 AFM1 AFM1	-كل أنواع الطعام -الذرة (السليمة والحبوب المطحونة) -طعام الأطفال -اللبن ومنتجات اللبن -الجبنه	هندوراس
20 µg/kg	B1,B2,G1,G2	-الطعام والحبوب	جاميكا
20 µg/kg 200 µg/kg Zero µg/kg	B1,B2,G1,G2 B1,B2,G1,G2 B1,B2,G1,G2	-الدقيق -الحبوب للماشية -اعلاف الأبقار المنتجة للألبان وللدواجن	المكسيك
لا يوجد نظم محدده			بنما
10 µg/kg	B1,B2,G1,G2	-كل الطعام	بيرو
Zero µg/kg	B1,G1	-الذرة ومنتجاته - فول السودانى فول الصويا، الطماطم	جمهورية دومنيكان

20 µg/kg	B1,B2,G1,G2	ومنتجاتها - الذرة المستورد	
5 µg/kg	B1,B2,G1,G2	- دقيق الأرز	فنزويلا
20 µg/kg	B1,B2,G1,G2	- الأعلاف	
2 µg/kg 4 µg/kg	Aflatoxin B1 Total(B1+B2+G1+G2)	- فول السوداني - المكسرات في الفواكه عموماً والمجفف للاستخدام المباشر	الاتحاد الأوربي
8 µg/kg 15 µg/kg	B1 Total(B1,B2,G1,G2)	- فول السوداني مثل عمليات الاختيار أو أي عمليات فيزيائية أخرى	
5 µg/kg 10 µg/kg	B1 Total(B1,B2,G1,G2)	- المكسرات والفواكه المجفف المنتقاء أو تعرضت العمليات فيزيائية	
2 µg/kg 4 µg/kg	B1 Total(B1,B2,G1,G2)	- الحبوب cereals والمنتجات المصنعة الأخرى للاستخدام المباشر أو كمواد خام للطعام	
0.05µg/kg	AFM1	- اللبن الخام أو المنتجات اللبن أو اللبن العامل حرارياً. - البهارات	
5 µg/kg 10 µg/kg	B1 Total(B1,B2,G1,G2)		
5 µg/kg 3 µg/kg	Ochratoxin A Ochratoxin A	Raw cereals - منتجات الـ cereals للاستخدام المباشر بواسطة الإنسان	
10 µg/kg 10 µg/kg	Ochratoxin A Patulin	- الفاكهة المجففة - طعام الأطفال	
50 µg/kg 20 µg/kg	AFB1 AFB1	- المواد الخام للطعام - منتجات الفول السوداني، جوز الهند المجفف، بلح النخيل بذور القطن، الذرة	
50 µg/kg	AFB1	- المواد الخام للماشية	

10 µg/kg	AFB1	التسمين، والأغنام، الأبقار ماعدا الحيوانات الصغيرة -العجول الصغيرة والحملان	
5 µg/kg	AFB1	-مكملات مواد الطعام الخام.	
30 µg/kg	AFB1	-مكملات مواد الطعام الخام للطيور	
50 µg/kg	AFB1	-مكملات مواد الطعام الخام للماشية، والأغنام، ماعدا الحيوانات المرضعة والعجول الصغيرة والحملان وصغار الماعز	
200 µg/kg	AFB1	-المواد الخام فى منتجات الفول السودانى والنخيل القطن، الذرة	
0.05 µg/kg	B1,B2,G1,G2	-الطعام للأطفال والصغار	
0.05µg/kg	AFM1	-اللبن	
0.01µg/kg	AFM1	-الطعام للأطفال	
5 µg/kg	AFB1	-الفول السودانى	بلجيكا
0.05 µg/kg	AFM1	-اللبن	
2 µg/kg	AFB1	-الفول السودانى	دينمارك
4 µg/kg	Total(B1,B2,G1,G2)	ونواتجه	
2 µg/kg	AFB1	-التين الجاف	
4 µg/kg	Total(B1,B2,G1,G2)	والمكسرات	
5 µg/kg	Ochratoxin A	البرازيلية cereals- ومنتجاتها	
10 µg/kg	Total(B1,B2,G1,G2)	-كل الأطعمة	اسبانيا
5 µg/kg	AFB1		
10 µg/kg	AFB1	-كل الأطعمة	فرنسا
10 µg/kg	AFB1	-فول السودانى ، الفستق، اللوز، طعام الأطفال	
10 µg/kg	AFB1	-نخالة القمح	
5 µg/kg	AFB1	-الزيوت النباتية،	
50 µg/kg	Patulin	cereals	
200 µg/kg	Zearalonone	-منتجات العصير -الزيوت النباتية،	

5 µg/kg 0.05 µg/kg 0.03 µg/kg	Ochratoxin A AFM1 AFM1	cereals cereals- -اللبن، مسحوق اللبن -اللبن، مسحوق اللبن (للأطفال أقل من 3 سنوات)	
10 µg/kg 5 µg/kg 20 µg/kg 50 µg/kg	Total(B1,B2,G1,G2) AFB1 Ochratoxin A Patulin	-فول السوداني ، البندق، الكاجو، الفستق، اللوز، بذور القرعيات، المشمش الجاف، التين -القهوة، عصير التفاح ، منتجات التفاح	اليونان
5 µg/kg	AFB1	-فول السوداني ومنتجاته	لوكسمبرج
5 µg/kg 50 µg/kg	Total(B1,B2,G1,G2) Patulin	-كل الأطعمة -عصير التفاح المركز	النرويج
20 µg/kg 25 µg/kg 5 µg/kg	AFB1 AFB1 AFB1	-كل الأطعمة -فول السوداني -طعام الأطفال infants	البرتغال
5 µg/kg 50 µg/kg 0.05 µg/kg 50 µg/kg 10 µg/kg 1 µg/kg 3 µg/kg 10 µg/kg 50 µg/kg 1.5 µg/kg	Total(B1,B2,G1,G2) Patulin AFM1 AFB1 AFM1 AFB1 AFB1 AFB1 AFB1 AFB1 AFB1	-كل الأطعمة -التوت، الفاكهة، العصائر -منتجات اللبن السائل -مكونات الغذاء الخام -مكونات الغذاء الخام لماشية اللبن -الحبوب والأعلاف كمكونات للغذاء الخام لماشية اللبن -المواد الغذائية الخام (ماعدا مخلوط الأعلاف) لماشية اللبن. -المواد الخام الكاملة. -المواد الغذائية الخام كاملة لماشية التسمين، الأغنام ماعدا ماشية اللبن والحيوانات الصغيرة -المواد الغذائية الخام كاملة لماشية اللبن	السويد

200 µg/kg	Ochratoxin A	والأعلاف -المواد الغذائية الخام كاملة للطيور	
1 µg/kg	AFB1,AFG1	-القمح، الذرة، الأرز cereals	البوسنة والهرسك
5 µg/kg	AFB1,AFG1	-اللوبيا والفاصوليا	
5 µg/kg	Total(B1,B2,G1,G2)	-كل الطعام	فنلندا
50 µg/kg	Patulin	-كل الطعام	
5 µg/kg	AFB1	-كل الطعام	المجر
30 µg/kg	AFB1	-فول السوداني	
zero µg/kg	كل السموم الفطرية	-الأطعمة المحفوظة	
5 µg/kg	Total(B1,B2,G1,G2)	-الفول السوداني	
1 µg/kg	AFB1,AFG1	-القمح، الذرة، الأرز	مقدونيا
5 µg/kg	AFB1,AFG1	-اللوبيا، الفاصوليا	
Zero µg/kg	AFB1	-كل الطعام	بولندا
50 µg/kg	AFB1	-مكونات الطعام الخام للماشية والأغنام والماعز	
5 µg/kg	AFB1	-كل الطعام	جمهورية التشيك
10 µg/kg	B2,G1,G2	-طعام الأطفال	
1 µg/kg	AFB1	-الـ infants	
2 µg/kg	B2,G1,G2	-كل الطعام	
50 µg/kg	Patulin		
20 µg/kg	Ochratoxin A		
20-30 µg/kg	Patulin	-طعام الرضع	
1- 5 µg/kg	Ochratoxin A	infant foods	
0.5 µg/kg	AFM1	-اللبن	
5 µg/kg	AFM1	-أى نواتج أخرى	
1 µg/kg	AFM1	-الطعام للأطفال والرضع	
0.1 µg/kg	AFM1	-طعام الرضع المعتمد	
0.1 µg/kg	AFB1	على اللبن	
0.2 µg/kg	B2,G1,G2		
Zero µg/kg	AFB1	-كل الطعام	رومانيا
50 µg/kg	Patulin		
5 µg/kg	Ochratoxin A		
30 µg/kg	Zearalenone		
Zero µg/kg	AFM1	-اللبن ومنتجاته	
30 µg/kg	Patulin	-المواد الخام للطعام	
5 µg/kg	Ochratoxin A		
1000 µg/kg	Deoxynivalenol		
1 µg/kg	AFB1,AFG1	-القمح، الذرة، الأرز	صربيا

5 µg/kg	AFB1, AFG1	والحبوب والفاصوليا cereals -	
1 µg/kg	AFB1	- كل الطعام (فيما عدا	سويسرا
5 µg/kg	B2, G1, G2	الذرة الـ cereals, (herbs	
2 µg/kg	AFB1	- الذرة، cereals	
5 µg/kg	B2, G1, G2		
5 µg/kg	AFB1	- الأعشاب herbs	
5 µg/kg	B2, G1, G2		
0.01 µg/kg	B1, B2, G1, G2	- طعام الأطفال الرضع	
2 µg/kg	Ochratoxin A	- Cereals	
1000 µg/kg	Fumonisin B1+B2	- الذرة ومنتجاته	
50 µg/kg	Patalin	- عصير الفاكهة	
0.05 µg/kg	AFM1	- اللبن ومنتجاته	
0.025 µg/kg	AFM1	- مصل اللبن ومنتجاته	
0.25 µg/kg	AFM1	- الجبنه	
0.02 µg/kg	AFM1	- الزبد وطعام الرضع	
5 µg/kg	B1	- كل الاطعمه	جنوب
10 µg/kg	Total (B1, B2, G1, G2)		افريقيا
5 µg/kg	Total (B1, B2, G1, G2)	- كل الاطعمه	استراليا
15 µg/kg	Total (B1, B2, G1, G2)	- زبدة فو السوداني، المكسرات عموماً	
10 µg/kg	AFB1	- الأرز، الزيوت	الصين
20 µg/kg	AFB1	الصالحة للأكل	
		- القمح، الشعير، الشوفان، اللوبيا، وحبوب أخرى والطعام المتخمّر	
5 µg/kg	B1, B2, G1, G2	- Cereals، البقوليات، الفواكه المجففة، السمسم، والطعام الناتج من هذه المنتجات، بذور الخشخاش، البذور المستعملة في منتجات المخايز والحلويات.	
0.5 µg/kg	All aflatoxins	- اللبن ومنتجاته	
100 µg/kg	B1, B2, G1, G2	- مكونات الأطعمة	ساحل العاج
		الخام	
10 µg/kg	B1, B2, G1, G2	- الطعام الخام كاملاً	
75 µg/kg	B1, B2, G1, G2	- الطعام الخام كاملاً	

50 µg/kg	B1,B2,G1,G2	لماشية اللحم، الأغنام والماعز - الطعام الخام كاملا لأبقار اللبن	
10 µg/kg 5 µg/kg 20 µg/kg 10 µg/kg zero µg/kg zero µg/kg 20 µg/kg 10 µg/kg	B1,B2,G1,G2 AFB1 B1,B2,G1,G2 AFB1 B1,B2,G1,G2 G1,G2,M1,M2 B1,B2,G1,G2 AFB1	- فول السوداني ومنتجاته، زيت البذور ومنتجاته - Cereals ومنتجاته - الذره - النشا ونواتجه - اللبن ومنتجاته - الأعلاف للحيوانات والطيور	مصر
20 µg/kg 20 µg/kg	B1,B2,G1,G2 B1,B2,G1,G2	- المكسرات ومنتجاتها - الطعام الخام لمواشي اللحم	الفلبين
15 µg/kg 20 µg/kg	B1,B2,G1,G2,M1,M2,AFP1 , Aflatoxicol B1,B2,G1,G2,M1,M2,AFP1 , Aflatoxicol	- الطعام بوجه عام - الفول السوداني ومنتجاته	هونج كونج
30 µg/kg 120 µg/kg	AFB1 AFB1	- كل الأطعمة - زهرة الفول السوداني (للتصدير)	الهند
50µg/kg 20 µg/kg 300 µg/kg 100 µg/kg 1000 µg/kg	Ochratoxin A AFB1 Ochratoxin A T-2 toxin Diacetoxyscirpenol	- Cereals، البقوليات ومنتجاتها - حبوب الطعام الخام	أندونيسيا
10 µg/kg 1000 µg/kg	AFB1 AB1	- الأطعمة - المواد الخام	اليابان
30 µg/kg 15 µg/kg	B1,B2,G1,G2 AFB1	- اللوز، cereals، الذرة، فول السوداني، الفستق، الصنوبر، الأرز	الأردن
5 µg/kg	AFB1	- فول السوداني (للتصدير)	مالاوي
35 µg/kg	B1,B2,G1,G2	- كل الأطعمة	ماليزيا
5 µg/kg Zero µg/kg 1 µg/kg 50 µg/kg	AFB1 AFB1 AFM1	- كل الأطعمة - طعام الأطفال infants - اللبن السائل	نيجيريا

	AFB1	-المواد الخام للطعام	
5 µg/kg 15 µg/kg	B1,B2,G1,G2 B1,B2,G1,G2	-كل الأطعمة -زبدة وحبوب الفول السوداني، المكسرات	نيوزيلاند
50 µg/kg 300 µg/kg	AFB1 AFB1	-منتجات الفول السوداني -منتجات الفول السوداني كموا د خام	عمان
30 µg/kg 1 µg/kg	All aflatoxins All aflatoxins	-الأطعمة عموماً -طعام الأطفال (حتى عمر ٣ سنوات)	سريلانكا
5µg/kg 4 µg/kg 5µg/kg 4 µg/kg	AFB1 AFG1 AFB1 G1	-دقيق الأرز -فول السوداني، الذرة	زيمبابوي

الباب الثالث عشر
أمثلة لتصور المرض
الفطري

Fungal Disease Fact Sheet

الباب الثالث عشر


أمثلة لتصوير المرض الفطري Fungal Disease Fact Sheet

I. فطريات منتجة للسموم الفطرية Mycotoxic fungi

أولاً: أسم المرض: مرض عفن كيزان الذرة وسنابل القمح المصابة بالاسبرجلس:




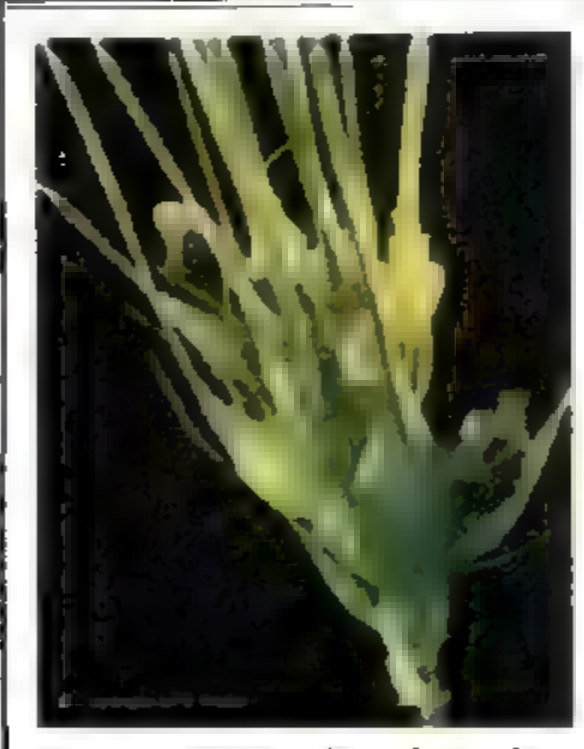
Aspergillus Ear Rot

الحبوب المصابة Grain affected	أساساً الذرة ومنتجاته، فول السودانى ومنتجاته. وثانويًا البيكان (أحد أنواع شجر الجوز الأمريكي)، الجوز Walnuts اللوز Almonds، مطحون بذرة القطن Cottonseed meal، الذرة الرفيعة، الشعير، الشوفان	 Photo 1. <i>Aspergillus</i> sp. growing on corn kernel
السم الفطري Mycotoxin	أفلاتوكسين Aflatoxin	
المسبب المرضي Pathogen	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasiticus</i> , <i>A. nomius</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. glaucus</i> .	
الأعراض Symptoms	عفن أخضر إلى أصفر على كيزان الذرة في الحقل أو على الحبوب في المخزن	
الظروف Conditions	الرطوبة moisture ما قبل الحصاد أكبر من ١٨٪، درجة الحرارة ١٢-٤٠°م (٥٤-١٠٤°فهرنهایت) الرطوبة المتكثفة Humidity أكبر من ٨٥٪، جفاف شديد severe drought stress، نقص النيتروجين، ضرر حشري كبير، يجب تجفيف الحبوب المخزونة وتثبيتها حتى أقل من ١٤٪ رطوبة.	 Photo 2. <i>A. flavus</i> on insect damaged ear of corn
انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculum Dispersal	تنتقل خلال المياه عن طريق المطر، مياه الرش الملوثة، عن طريق الهواء وأيضاً من خلال التلف بسبب الحشرات أو الطيور	
بقاء الجراثيم Inoculum Survival	زيادة الأمطار على أو بالقرب من سطح التربة على حطام العائل النباتي التالف.	
التأثير على المحصول Effect on Crop	نقص الناتج ونوعية الحبوب	

تقليل الظروف القاسية على المحصول من الجفاف والضرر الحشري ، الحصاد المبكر مع خفض مستوى رطوبة التخزين حتى أقل من ١٥ %	الإدارة Management	
٢٠ جزء في البليون (20ppb) لمنتجات الحبوب والعلف، 0.5ppb للألبان. الحدود الموصى لها في الأعلاف: 20ppb لأبقار اللبن، 100ppb لأبقار التربية والدجاج البالغ النمو.	التأثير طبقاً لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action level	 <p>Photo 3. Ear of corn infected with <i>A. flavus</i>.</p>
لا يوجد حيوان مقاوم للتأثيرات السامة الحادة للأفلاتوكسين طبقاً للـ FDA	التأثير على الدواب Livestock Affected	
تلف الكبد، نقص في كفاءة التوالد، نقص في إنتاج اللبن أو البيض موت الأجنة، خلل في المواليد	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	
يشعر المريض بحمى، شعور باليرقان rapid progressive jaundice ، استسقاء edema في الأطراف، آلام وشعور بالقيء ، انتفاخ الكبد. الفحص الهستولوجي للإنسان أظهر تلف في القناة الصفراوية وتليف في الكبد ونزيف في المعدة والأمعاء.	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	

ثانياً أسم المرض: ارجوت فطري يصيب الأرز وغيره من الحبوب يحل محل البذرة وتصبح

سوداء Ergot:

القمح ، الشعير ، Rye ، الشوفان البري والمنزوع	الحبوب المتأثرة Grain Affected	
Ergot Alkaloids - Ergotamine, Ergotpeptide pyrrolidine and Lysergic Acid Alkaloids	السموم الفطرية Mycotoxins	
Claviceps purpurea, Claviceps paspalli and Claviceps fusiformis	المسبب المرضي Pathogen	Photo 4. Ergot sclerotia
يتكون جسم صلب sclerotia يشبه القرن hornlike بلون أسود - قرنفلوي ويسمى - ergot bod- ies والذي يحل محل بذرة أو أكثر في السنبله ويكون أكبر ١٠ مرات عن البذور العادية. وتنتشر زهرات صغيرة سكريه بدرجه بسيطة في صورة فطرات صفراء لزجه.	الأعراض Symptoms	
يفضل مرض Ergot ظروف الرطوبة والطقس البارد طوال فترات التزهير ويحدث الإنبات أثناء الربيع وبدايات الصيف.	الظروف Conditions	Photo 5. Wheat head with ergots
الانتقال خلال الهواء والأمطار المتناثرة والحشرات	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculums Dispersal	
تظل الأجسام الصلبة Sclerotia حيوية قابلة للنمو لمدة عام تقريباً في التربة ولمدة أطول للحبوب في المخزن	بقاء الجراثيم Inoculums Survival	
يقلل الناتج	التأثير على المحصول Effect on Crop	
حرث عميق للتربة، دورة المحاصيل، بذور نظيفة، استعمال آلات حديثة لتنظيف البذور، زراعة نظيفة، إزالة مصادر ال- ergot المحتملة بواسطة تنظيف الطرق والأراضي المحيطة قبل نضج النجيليات.	الإدارة Management	Photo 6. Barley head with honeydew and ergots (APS)


لا يوجد	التأثير طبقاً لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action level	
الماشية والغنم	التأثير على الدواب Livestock Affected	
تقلص الأوعية الدموية في الأطراف يتبعها غرغرينا جافة -dry gan- grenes ، التهاب القناة الهضمية ، نزيف داخلي في ، إمساك أو إسهال وقد يحدث إجهاض في الخنازير.	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	
وجد أنه تحدث إصابة بالفطر غرينا ، تشنجات، اضطراب في المعدة والأمعاء والتي تؤدي إلى ٥٠ % موت تقريباً	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	

Photo 7.
Ergot sclerotia
(APS)

ثالثاً: أسم المرض: عفن البذور بالفوزايم *Fusarium Ear Rot*

الذره	الحبوب المتأثرة Grain Affected	 <p>Photo 8. Corn infected by <i>Fusarium</i> sp.</p>
Fumonism	السموم الفطرية Mycotoxins	
<i>Fusarium moniliforme</i>	المسبب المرضي Pathogen	
كتله جراثيم بلون بني محمر إلى لون قرنفلي مصفر تبدأ في الكيزان أو على مجموعة من الحبوب منتشرة طوال الكيزان حتى تكون عفن قرنفلي زغبى أو فى صورة مسحوق	الأعراض Symptoms	
تظهر الأعراض بعد الإصابة بالحشرات أو الطيور. يتطور المرض فى الطقس الجاف، الرطوبة العالية فى الحبوب أثناء الحصاد.	الظروف Conditions	
تنتقل مع الهواء والتربة، الحشرات الطيور، ثاقبات الذرة corn borers، ديدان الأرض earworms، أدوات التخزين	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculum Dispersal	 <p>Photo 9. <i>Fusarium</i> ear rot (APS)</p>
زيادة الأمطار على أو بالقرب من سطح التربة على بقايا العائل النباتي التالف	بقاء الجراثيم Inoculum Survival	
نقص القيمة الغذائية والتسويقية	التأثير على المحصول Effect on Crop	
دورة محصوله، حرث عميق للتربة، أصناف مقاومه، تقليل مستوى النيتروجين فى الحقل، استعمال أدوات نظيفة فى التخزين.	الإدارة Management	
لا يوجد ولكن كمستويات استشارية هو 5ppm للخيل ، 10ppm للخنازير، 50ppm للمواشي.	التأثير طبقاً لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action level	

الخيول، القروء، البغال mules، الخنازير، المواشى	التأثير على الدواب Livestock Affected	
فقدان الشهية	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	
أوضحت الأبحاث مشاكل صحية خطيرة (السرطان Cancer)	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	

رابعاً: اسم المرض: عفن البذور بالجربيللا *Gibberella Ear Rot*

الذرة Corn	الحبوب المتأثرة Grain Affected	 <p>Photo 10. Gibberella ear rot</p>
Deoxynivalenol (Vomitoxin, DON), Zearalenone (Zea), T-2	السموم الفطرية Mycotoxins	
<i>Fusarium graminearum</i> , <i>Fusarium roseum</i> (sexual stage), <i>Gibberella zeae</i>	المسبب المرضي Pathogen	
ظهور عفن قرنفلي إلى احمر يبدأ عند قمة الكوز. وفي بعض الأحيان تظهر بقع بلون أسود - أزرق على القشرة والسيقان	الأعراض Symptoms	 <p>Photo 11. Kernels infected with <i>Gibberella zeae</i> (APs)</p>
يكون تواجدته بواسطة فترات بروده معتدلة خلال ثلاثة أسابيع بعد تكوين الشعيرات الحريرية. يلزم رطوبة أكبر من ٢٠٪ ودرجة حرارة ٢١-٢٩°م في حاله DON، ودرجة حرارة أقل من ١٥°م في حالة Zea, T-2 مع رطوبة عالية.	الظروف Conditions	
تنتقل مع الماء عن طريق المطر، مياه الرش الملوثة، وعن طريق الهواء وأيضاً من خلال التلف بسبب الحشرات والطيور.	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculum Dispersal	
زيادة الأمطار على أو بالقرب من سطح التربة في بقايا العائل مثل الأعشاب، الذرة، القمح، بقايا الزراعات.	بقاء الجراثيم Inoculum Survival	 <p>Photo 12. Gibberella ear rot (APs)</p>
نقص الناتج، ونوعية الحبوب	التأثير على المحصول Effect on Crop	
دورة المحاصيل، حرث عميق للتربة لدفن بقايا المحصول. التجفيف بعد الحصاد يصل إلى أقل من ١٨٪ رطوبة لكل الكيزان المخزنة، وأقل من ١٥٪ للذرة المغلفة، هجين مقاوم	الإدارة Management	



<p>لا يوجد مستوى فعال ولكن FDA وضعت مستوى استشاري لمركب DON هو 1ppm لمنتجات القمح النهائية وكذلك المستويات التالية. 5ppm (أقل من ٢٠٪ في الوجبة) للخنزير، 10ppm (أقل من ٥٠٪ في الوجبة للماشية، الدجاج، 5ppm للحيوانات الأخرى (أقل من ٤٠٪)</p>	<p>التأثير طبقاً لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action level</p>	
<p>للخنزير في مدى 1ppm</p>	<p>التأثير على الدواب Livestock Affected</p>	
<p>DON يسبب القيء، نقص في الوزن، إسهال، نعاس، شحوب لون الجلد، التهابات جلديه، نزيف معوي، رفض الطعام. Zea يمنع الخصوبة، يسبب إجهاض ومشاكل النزيف الدموي.</p>	<p>الأعراض على الدواب Livestock Symptoms</p>	
<p>لا يوجد</p>	<p>الأعراض على الإنسان Human Symptoms</p>	

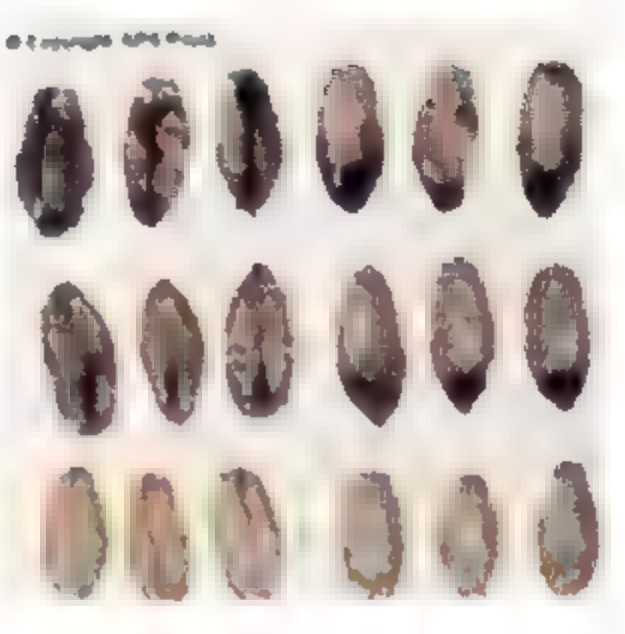
خامساً: اسم المرض : الجرب (Scab (Head Blight)

الحبوب المتأثرة Grain Affected	القمح، الشعير	
السموم الفطرية Mycotoxins	Deoxynivalenol (Vomitoxin, DON), Zearalenone	Photo 13. Plants infected with scab (APS)
المسبب المرضي Pathogen	Fusarium graminearum, Gibberella zeae,	
الأعراض Symptoms	تظهر سنابل القمح باهته مع إزالة لون الساق البني الأرجواني. تظهر كتل جراثيم بلون قرنفلي إلى برتقالي على الحبوب وعلى العصا فه التي تحيط بقاعدة السنبل Glyme في الشعير: أول دليل للإصابة هو ظهور بقع ماء صغيرة بنية اللون إلى حد ما عند قاعدة العصا فه التي تحيط بقاعدة السنبل وكذلك على محور السنبل ruches كما تنتشر البقع المشربة وإزالة اللون في كل الاتجاهات.	
الظروف Conditions	معظم الفترات: الرطوبة أكبر من ٢٠٪، درجة الحرارة ٢١ - ٣٠ م، الرطوبة عالية، وقد تحدث الإصابة عند درجة حرارة منخفضة ١٥ م إذا ظلت الرطوبة عالية حتى ٧٢ ساعة.	Photo 14. Spikes infected with scab (APS)
انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض	تنتقل بواسطة الهواء خلال الفصول الممطرة فإن الجراثيم قد تتساقط على محاصيل الحبوب الأخرى. وقد تنقل الجراثيم خلال التربة مع زيادة الأمطار من عائل محاصيل سابقه كذلك نتيجة تلف الحشرات والطيور	
بقاء الجراثيم Inoculum Dispersal	زيادة الأمطار على أو بالقرب من سطح التربة في متبقيات العائل مثل الأعشاب وبقايا القمح والشعير بعد الحصاد.	Photo 15. Wheat spiklet with orange spore mass
التأثير على المحصول Effect on Crop	نقص الناتج ونوعية الحبوب. تؤثر بطريقه شديدة على نكهة ومواصفات الخبز	




دورة محصوليه، حرث عميق للتربة لدفن متبقيات المحصول. التجفيف ما بعد الحصاد أقل من ١٥ ٪ رطوبة.	الاداره Management	
مستويات استشاريه من DON : 1ppm لمنتجات النهائية، 5ppm للخنازير (أقل من ٢٠ ٪ فى الوجبة) ، 5ppm لكل الحيوانات الأخرى (بمعدل أقل من ٤٠ ٪ فى الوجبة) ، 10ppm للماشية والدواجن (بمعدل أقل من ٥٠ ٪ فى الوجبة)	التأثير طبقا لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action Level	 Photo 16. Scab damage
على الخنازير فى مدى 1ppm الـ DON يمكن أيضا أن يسبب مشاكل فى الخيول وفى حيوانات التربية واللبن ولكن عند تركيزات عاليه. المواشي والدواجن أكثر تحملا لكل من vomitoxin, zeara-lenone	التأثير على الدواب Livestock Affected	
DON : يسبب قئ، يقلل الوزن المكتسب ، إسهال، يسبب الكسل والنعاس lethargy، شحوب لون الجلد، التهابات جلدية، نزيف معوي ورفض الطعام، ZEA: يسبب استئطالة أو انتفاخ فى الأعضاء التناسلية للإناث ومشاكل خطيرة فى التوالد وعدم الخصوبة، نقص إنتاج اللبن فى المواشي	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	 Photo 17. Barley kernels infected with <i>G. Zeae</i> (APS)
يحفز عضلة التشنج والقئ	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	


II فطريات غير منتجة للسموم الفطرية Non mycotoxigenic fungi
أولاً: اسم المرض : القمة السوداء/ النقطة السوداء Black Tip / Black Point

الحبوب المتأثرة Grain Affected	القمح والشعير
السموم الفطرية Mycotoxins	لا يوجد
المسبب المرضي Pathogen	<i>Cochliobolus sativus</i> , <i>Helminthosporium sativum</i> (asexual stage)
الأعراض Symptoms	ضرر بني على القصبات في الساق، الجذور و الساق الجوفاء ذو العقد culms في البادرات. ويظهر أضرار بلون أسود - بني على أوراق النباتات الناضجة.
الظروف Conditions	البادرات: تدفئة وتجفيف مكان وضع البذور أما الناضجة تكون الرطوبة أكبر من ٩٠٪ تساقط الأمطار أثناء نضج البذرة أكبر من ٢٠٪
انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculum Dispersal	أساساً خلال تخزين بذور مصابه ويمكن بزيادة الأمطار في التربة
بقاء الجراثيم Inoculum Survival	أساسيات خلال تخزين بذور مصابه ويمكن بزيادة الأمطار في التربة
التأثير على المحصول Effect on Crop	تكوين لون ورائحة غير مرغوبة، نقص في الناتج والقدرة على الإنبات بسبب لفحه للبادرات ، عفن الجذور تكوين بثرات الشعير يصبح غير مقبولا لعمل شراب الشعير
 Photo 18. Wheat kernels infected with black tip fungus (FGIS)	
 Photo 19. Black tip damage (FGIS W-1.0)	
 Photo 20. Barley kernels severely infected with black.	

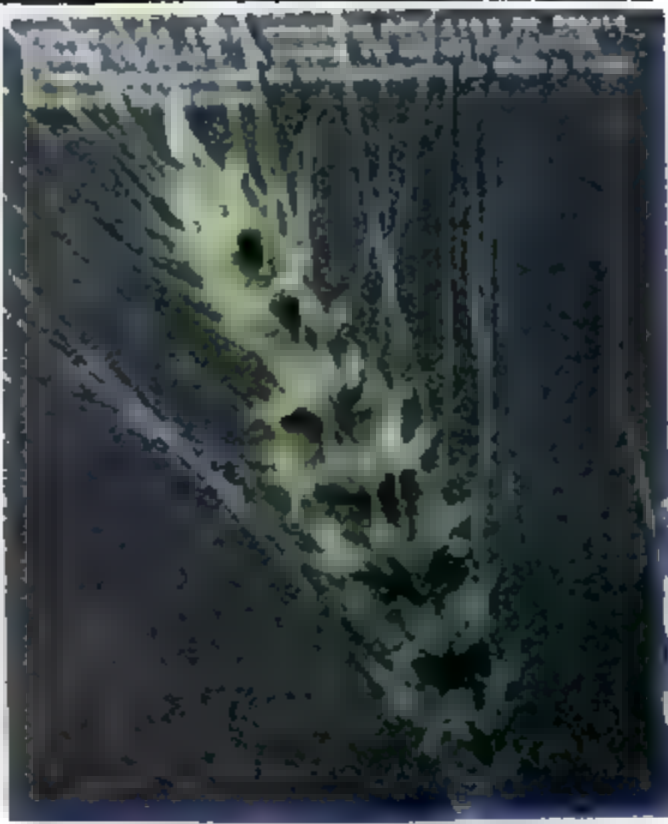
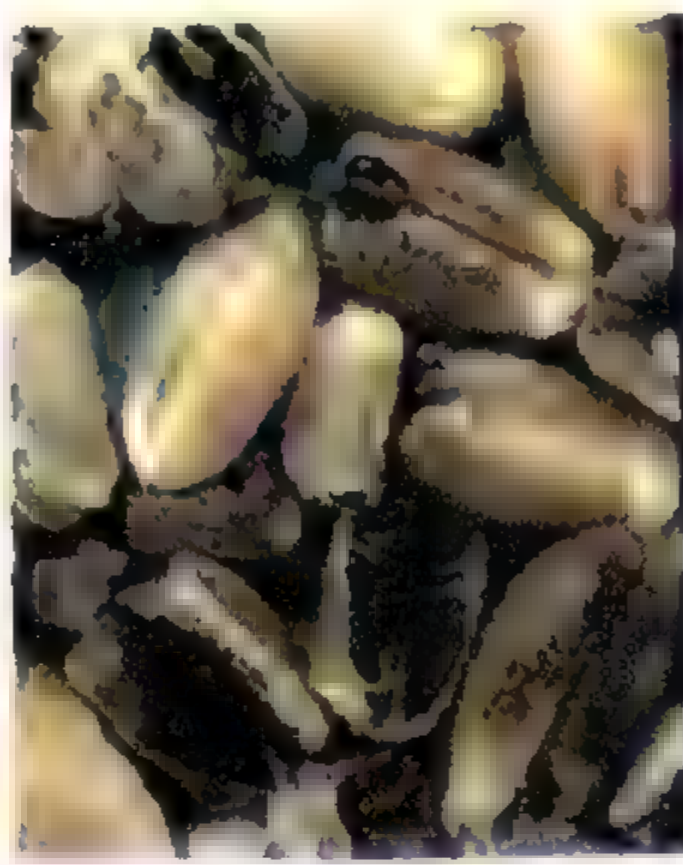

زراعة بذور غير مصابه مع الحرث العميق للتربة	الاداره Management	 <p>Photo 21. Wheat kernels severely infected with black tip (APS)</p>
لا يوجد	التأثير طبقا لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action Level	
لا يوجد	التأثير على الدواب Livestock Affected	
لا يوجد	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	
لا يوجد	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	

ثانياً: اسم المرض عفن العين الأزرق Blue Eye Rot

الذرة	الحبوب المتأثرة Grain Affected	
لا يوجد	السموم الفطرية Mycotoxin	Photo 22. Blue-eye mold damage (FGIS C-1.0)
<i>Penicillium oxalicum</i>	المسبب المرضي Pathogen	
عفن أخضر غامق أو أخضر مزرقي على وبين الحبوب في العادة عند قمة الكيزان. تغيير لون الـ germ يؤدي إلى موت البذور	الأعراض Symptoms	Photo23. Purple plumule; not damage (FGIS C-1.1)
هو العفن المخزن ويزيد الاصابه به بواسطة فترات مبلله ممتدة خصوصاً على قوالب الذرة المخزنة في صناديق والرطوبة أكبر من ١٨٪ ودرجة الحرارة ٥٣م. وقد تحدث الاصابه في الحقل بواسطة تلف الحشرات والطيور	الظروف Conditions	
ينتقل المرض بواسطة التربة والهواء، الحشرات، الطيور الآلات ووسائل التخزين	انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculum Dispersal	
زيادة الأمطار على أو قرب سطح التربة في متبقيات العائل وعن طريق الآلات ووسائل التخزين	بقاء الجراثيم Inoculum Survival	
نقص القيمة الغذائية والتسويقية	التأثير على المحصول Effect on Crop	

الحصاد المبكر، التهوية والتجفيف لخفض الرطوبة إلى أقل من ١٥%	الاداره Management	
لا يوجد	التأثير طبقا لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action Level	 <p>Photo 25. Conidia and conidiophores of <i>Penicillium sp</i></p>
لا يوجد	التأثير على الدواب Livestock Affected	
لا يوجد	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	
لا يوجد	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	

ثالثاً : اسم المرض مرض بطحه الحبوب Karnal Bunt

الحبوب المتأثرة Grain Affected	القمح، Rye	 Photo 26. Wheat infected with karnal bunt
السموم الفطرية Mycotoxin	لا يوجد	
المسبب المرضي Pathogen	<i>Tilletia indica</i>	 Photo 27. Seed infected with kernel bunt (APS)
الأعراض Symptoms	ظهور جراثيم ذات لون بني غامق على عدد قليل من البذور لكل سنبله يمتد بطول الجزء المتجدد وأحياناً يحيط السنبله كليه والجراثيم تسبب رائحة مثل رائحة السمك للحبوب	
الظروف Conditions	يلزم ظروف رطبه لإنبات الجراثيم ، الري العميق وسقوط الأمطار يتبعها برودة عادية لمدة ٣- ٤ أيام ، طقس رطب تكون لازمة قبل نفاذية الجراثيم	 Photo 28. Teliospore of T. indica (APS)
انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculum Dispersal	تتقل أساساً مع الهواء أثناء الحصاد عند كسر الجزء الحامل للبطحة كذلك من خلال استعمال آلات ملوثة.	
بقاء الجراثيم Inoculum Survival	الجراثيم في التربة مع زيادة الأمطار ثم تنبت عند أو قرب سطح التربة في وجود الظروف الملائمة ويمكن للجراثيم أن تبقى حيوية في التربة لمدة ٥ سنوات.	

نقص ناتج ونوعية المحصول الدقيق المصنوع من الحبوب المصابة بالبطحة يتغير طبيعة بطعم ومذاق غير مقبول	التأثير على المحصول Effect on Crop	
معاملة البذور كيميائياً لتثبيط الجراثيم المنقولة بالبذور وبعض المبيدات الفطرية تطبق عند تكوين السنابل للوقاية ضد الاصابه	الاداره Management	
لا يوجد	التأثير طبقاً لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action level	 <p>Photo 29. Infection begins at the embryo and progresses along the crease. (APHIS)</p>
لا يوجد	التأثير على الدواب Livestock Affected	
لا يوجد	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	
لا توجد أعراض ولكن القمح المحتوى أكبر من ٣٪ حبوب مصابه بالبطحة يعتبر غير مناسب لاستهلاك الإنسان	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	

رابعاً : اسم المرض مرض التقزم الصدأى (TCK Smut (Dwarf Bunt

الحبوب المتأثرة Grain Affected	القمح، الشعير، الأعشاب Rye، البرية والمنزرعة
السموم الفطرية Mycotoxin	لا يوجد
المسبب المرضى Pathogen	<i>Tilletia controversa</i>
الأعراض Symptoms	النباتات المتأثرة تكون ربع إلى نصف الحجم العادي. العصافات التي تحيط بقاعدة السنبلة تنتشر بعيداً عن كرات الصدا
الظروف Conditions	درجة الحرارة 3-5م مقتصرة على المناطق التي يكون فيها الشتاء معرض للثلوج فترة طويلة.
انتشار الجراثيم أو المادة المسببة للمرض Inoculum Dispersal	في أول الأمر بواسطة التربة ثم تبدأ في الإنبات تحت الثلوج أو عند سطح التربة
بقاء الجراثيم Survival Inoculum	يمكن أن تصمد في التربة حتى ١٠ سنوات
التأثير على المحصول Effect on Crop	خفض في الناتج ونوعيه الحبوب، تسبب رائحة نفاذه مثل رائحة السمك ومظهر داكن. جراثيم الصدا Bunt spores المنفردة أثناء دراسي المحصول تكون قابله للاحتراق مما قد يؤدي إلى حرائق.
 <p>Photo 30. head infected with dwarf bunt (APS)</p>	
 <p>Photo 31. Teliospores of <i>T. controversa</i> (APS)</p>	
 <p>Photo 32. Teliospore cloud during harvest of dwarf bunt infected wheat (AP)</p>	

استخدام أصناف قمح مقاومه، تطبيق مبيدات فطريه على سطح التربة بعد الإنبات	الاداره Management	
لا يوجد	التأثير طبقاً لمستوى إدارة الأغذية والدواء Food and Dry Administration (FDA) Action level	
لا يوجد	التأثير على الدواب Livestock Affected	
لا يوجد	الأعراض على الدواب Livestock Symptoms	
لا يوجد	الأعراض على الإنسان Human Symptoms	



التلوث بالعفن المنتج للسموم الفطرية ما بعد الحصاد بواسطة كل من
Aspergillus and Penicillium

جدول (17) ملخص للسموم الفطرية الرئيسية ، الفطريات الملوثة، الحيوانات المتأثرة، أعراض السمية :

السم الفطري Mycotoxin	الفطريات المصاحبة Fungi associated	المنتجات الملوثة Contaminated products	الحيوانات المتأثرة Animal affected	أعراض السمية / التأثيرات الطبية Symptoms/ Clinical effects
Aflatoxins B1,B2,G1,G2	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. parasitic</i> <i>A. nomius</i>	Corn, peanuts, cotton seeds, tree nuts	Swine, dogs, cats, Cattle, sheep, young birds, humans	Liver damages (necrosis, tumors), reduced growth, depressed immune response, carcinogen, intestinal bleeding
Aflatoxins M1,M2	<i>Metabolites of aflatoxinis B1 and B2</i>	Milk and dairy products		
Ergot alkaloids	<i>Claviceps purpurea</i> <i>C. paspali</i> , <i>C. africana</i>	Rye, sorghum, pasture grasses	Cattle, sheep, humans	Hallucinations, gangrene, loss of limbs, hastening of birth
Fumonisin	<i>Fusarium moniliforme</i> , <i>F. proliferatum</i>	Corn, silage	Horses, swine, humans	Pulmonary edema, equine leukoencephalomalacia, esophageal cancer, neural tube defects, liver damage, reduced growth
Ochratoxins	<i>Penicillium verrucosum</i> <i>Aspergillus ochraceus</i>	Cereal grains, coffee beans, grapes.	swine, humans	Kidneys and liver damages, Cancer

Trichotheceens	<i>F. sportotrichioides</i> , <i>F. poae</i> , <i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i>	Wheat, barley, oats, corn, cereals	Swine, dairy cattle poultry, horses, humans	Feed refusal, diarrhea, vomiting, skin disorders, reduced growth, necrosis, alimentary, toxic aleukia, hemorrhages, oral lesion in broiler chickens
Zearalenone	<i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i>	Corn, hay	Swine, dairy cattle	Enlargement of uterus, abortion, malformation of testicles and ovaries
Deoxynivalenol (DON)	<i>F. graminearum</i>	Wheat, barley, maize	swine, Cattle, humans, chicken	Feed refusal, reduced weight, diarrhea, vomiting
Patulin	<i>P. expansum</i>	Apple juice and apple related products	Animals, humans	tumorigenic
Citrinin	<i>Penicillium citrinum</i> , <i>Aspergillus Sp.</i>	rice		Kidney damage
Cyclopiazonic acid	<i>Penicillium Sp.</i> , <i>Aspergillus Sp.</i>			Neurotoxin
Sterigmatocyst-in	<i>Aspergillus Sp.</i> , others			Carcinogen, mutagen

المراجع

References

المراجع References

- Anyanwu, E. C. (2008). The validity of the environmental neurotoxic effects of toxigenic molds and mycotoxins .
The Internet Journal of Toxicology, 5(2):1559
- Baily , J. D. and P. Guerre (2009). Mycotoxins in Meat and Processed Meat Products.
Food Microbiology and Food Safety.
- Barkai-Golan, R. and N. Paster (2008). Mouldy fruits and vegetables as a source of mycotoxins: part1.
World Mycotoxin Journal, 1(2): 147-159.
- Diaz,C.J. and H.W.Murcia (2010).Biotransformation of aflatoxin B1 and relationship with the differential toxicological response to aflatoxin in commercial poultry species.
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia, Bogota D.C., Colombia. (www.intechopen.com)
- Eaton, L.D. and P.E. Gallagher (1994). Mechanisms of aflatoxin carcinogenesis .
Annu.Rev.Pharmacol.Toxicol. , 34 : 135 – 172

EU : Commission Regulation (EC) No. 1881/ 2006
of 19 December (2006) , as amended , on
setting maximum levels for certain
contaminants in foodstuffs.

Guengerich, F.P. and T. Shimada (1998).
Activation of procarcinogens by human
cytochrome P450 enzymes.
*Mutation Research /Fundamental and
Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 400(1-
2):201-213.

Humpf, H.U. and K.A. Voss (2004). Effects of
thermal food processing on the chemical
structure and toxicity of fumonisin
mycotoxins.
Mol. Nutr. Food Res., 48.:255 – 269 .

Johnson, W.W. ; T.M. Harris and F.P. Guengerich
(1996). Kinetics and mechanism of
hydrolysis of aflatoxin B1 exo-8,9-epoxide
and rearrangement of the dihydrodiol.
J.American Chemical Society, 118(35):8213-
8220.

Kiessling, K.H. (1986). Biochemical mechanism of
action of Mycotoxins .
Pure & Appl. Chem., 58(2): 327 – 338.

- Krishnamachari, K.A.V.R., Bhat, R.V., Nagarajan, V. and Tilak, T.B.G. 1975. Investigations into an outbreak of hepatitis in parts of Western India.
Indian. J. Med. Research 63: 1036-1048.
- Kuhn, D.M. and M.A. Ghannoum (2003). Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum* : Infection disease perspective.
Clin. Microbiol. Rev., 16(1):144 – 172.
- Lee, S.E. and B.C. Cambell (2000). In vitro metabolism of Aflatoxin B1 by larvae of navel orange worm and codling moth.
Arch. Insect Biochem. Physiol., 45: 166 – 174.
- Madden, U.A. and H.M. Stahr (1992). Effect of soil on aflatoxin tissue retention in chicks added to aflatoxin – contained poultry rations .
Veterinary & Human Toxicology, 34: 521-523.
- Mahendra, K. Rai , S.R. Bonde , A.P. Ingle and A.K. Gade (2012) . Mycotoxin : rapid Detection, differentiation and safety.
J. Pharm. Educ. Res. 3(1) :

- Marin – Kuan, M. , V.Ehrlich, T.Delatour, C.Cavin,
and B.Schilter (2011). Evidence for a role of
oxidative stress in the carcinogenicity of
ochratoxin A.
J. Toxicology, 2011, Article ID 645361:1-15.
- Miller, D.M., D.M. Wilson, R.D. Wyatt, J.K.
Mckinney, W.A. Crowell and B.A. Stuart
(1982). High performance liquid
chromatographic determination and clearance
time of aflatoxin residues in swine tissues.
J. Assoc. Official Analytical Chemists, 65:1- 4.
- Patreson, D.S.P:(1977). Metabolism of aflatoxin and
other Mycotoxins in relation to their toxicity
and the accumulation of residues in animal
tissues.
Pure Applied Chemistry, 49:1723 – 1731.
- Rai, M.K. ; S.R. Bonde ; A.P.Ingle and A.K.Gade
(2012). Mycotoxin: rapid detection, different-
iation and safety.
J. Pharm. Educ. Res., 3(1):
- Rany, K.D. ; B.Coles ; F.P. Guengerich and T.M.Har-
ris (1992). The endo-8,9-epoxide of aflato-
toxin B1: A new metabolite.
Chem. Research in Toxicol., 15(3):333- 335.

- Schmale, D.G. and G.P. Munkvold (2013).
Mycotoxins in crops: A Threat to human and
Domestic animal health.
The American Phytopathological Society,
- Stoloff, L. 1977. Aflatoxins - an overview. In
"Mycotoxins in Human and Animal Health",
*Park Forest South, Illinois: Pathotos
Publishers. pp. 7-28.*
- Terao, K. 1983. Sterigmatocystin - a masked potent
carcinogenic mycotoxin.
J. Toxicol. Tox. Rev. 2: 77-110.
- Ueno, Y. and Ueno, I. 1972. Isolation and acute
toxicity of citreoviridin, a neurotoxic
mycotoxin of *Penicillium citreoviride*
Biourge.
Jap. J. Exp. Med. 42: 91-105.
- United States Department of Agriculture (2006).
Grain fungal diseases and mycotoxin
reference.
*Grain Inspection Packers and Stockyards
Administration: 4-35*

- Uraguchi, K. 1969. Mycotoxic origin of cardiac beriberi.
J. Stored Prod. Research 5: 227-236.
- Young, J.C., H. Zhu and T. Zhou (2006) .
Degradation of Trichthecene mycotoxins by aqueous ozone .
Food and Chemical Toxicology, 44:417- 424.
- Wayne L. Bryden (2007). Mycotoxins in the food chain: human health implications.
Asia .Pac. J. Clin. Nutr., 16(1): 95 – 101.
- Wildl, C.P. and P.C. Turner (2002). The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions
Oxford J. Mutagenesis, 17(6):471 – 481.
- Worldwide Regulations for Mycotoxins (1997).
FAO Food and Nutrition Papre, No.64,Roma.
- Wu, F. (2006). Mycotoxin reduction in Bt corn: potential economic, health, and regulatory impacts.
Transgenic Research, 15:277-289.







**الأستاذ الدكتور
محمد عبد الفتاح طه ديش**

- أستاذ كيمياء وسمية المبيدات قسم كيمياء المبيدات - كلية الزراعة - الشاطبي - جامعة الإسكندرية.
- * المقررات الدراسية والاهتمامات العلمية :
- .. الكيمياء العضوية ، كيمياء المبيدات واختباراتها البيولوجية والتطبيقية
 - .. تحضير المركبات العضوية واختباراتها البيولوجية على الآفات المختلفة .
 - .. عزل المركبات العضوية الطبيعية والتعرف عليها من النباتات والحشائش واختبارها في صورة مبيدات على الآفات المختلفة .
 - قام بالإشراف على العديد من رسائل الماجستير والدكتوراه في مجال كل من مبيدات الحشائش،
 - الفطريات والقوارض والحشرات والكيمياء العضوية.
 - اشترك في العديد من اللجان والجمعيات العلمية والمؤتمرات العلمية المتخصصة المحلية والإقليمية والعالمية .
 - الإشراف على مشاريع بحثية للتوصل إلى مواد بديلة للمبيدات .
 - تنحصر الاهتمامات العلمية في مجال كيمياء المبيدات وتأثيراتها البيولوجية والتطبيقية ، والتأثيرات الجانبية على الإنسان والبيئة ، ومكافحة الآفات والتلوث .
 - وضع فكرة وتجهيز والإشراف على مؤتمر المبيدات ما لها وما عليها في 6-7 / 9 / 2006
 - مهمة علمية من جامعة كورنل - قسم البيوتكنولوجيا والكيمياء الحيوية بالولايات المتحدة الأمريكية من 1 / 8 / 1988 إلى 1 / 8 / 1990 .
- * قام بإصدار الكتب التالية :
- القوارض (2001) حياة وسلوك - مبيدات ومكافحة وتأثيراتها على البيئة - منشأة المعارف بالإسكندرية.
 - كيمياء المركبات الحلقية غير المتجانسة (2012) - مكتبة بستان المعرفة لطباعة ونشر وتوزيع الكتب.

هذا الكتاب

لن يرغب في المعرفة والبحث في مجال السموم الفطرية Mycotoxins وعلاقتها بصحة الإنسان والبيئة والنظم البيولوجية. يشمل هذا الكتاب : تمهيد عن الفرق بين الفطريات المنتجة وغير المنتجة للسموم الفطرية. والمحاولات المبكرة لإثبات وجود السموم الفطرية ومدى استعمال السموم الفطرية كسلاح بيولوجي. والتعرف على السموم الفطرية الرئيسية وتصنيفها وعلاقتها بصحة الإنسان وأنواع الأمراض وأعراضها التي تصيب الإنسان بسبب السموم الفطرية لنواتجها الحيوية وعلاقتها بسرطان الكبد وأعراض السرطان الأخرى والعلاقة مع الفيروسات والمتطفلات ، ومتبقياتهما في أنسجة الحيوانات وتواجد السموم الفطرية في سلسلة الطعام والبيئات الداخلية. والأمراض التي تصيب الحيوانات بسبب السموم الفطرية مع تقسيم السموم الفطرية طبقاً لمواضع التأثير. كما شمل علاقة الإصابة الحشرية بالتلوث الفطري والتداخل بين الحشرات والسموم الفطرية وميكانيكية إزالة سمية السموم الفطرية بواسطة الحشرات. والاهتمام بالسموم الفطرية في اللحوم ومنتجات اللحوم المصنعة. وكيفية منع وخفض السموم الفطرية وكذلك كيمياء ومكافحة السموم الفطرية وتأثيرها على صناعة الغذاء. وشمل الكتاب علي بعض الأمثلة المصورة لبعض الفطريات المنتجة للسموم الفطرية على المحاصيل المختلفة مقارنة لصور أخرى لفطريات غير منتجة للسموم الفطرية.